

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أمجد بوقرة بومرداس
Université de M'Hamed BOUGARA, Boumerdès
Faculté des Sciences
Département d'Agronomie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Agronomie

Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Phytopathologie

Thème :

*Evaluation de l'activité antifongique de deux huiles essentielles
Cymbopogon schoenanthus et Mentha pulegium sur cinq
champignons phytopathogènes.*

Présenté par :

BOUINOUNE ASSIA et LAGUEL SOUMEYA

Soutenu le 03/07/2023 devant le jury composé de :

Mme NEFFAH F.	Présidente	M.C.A. U.M.B.B.
Mme ABDELLAOUI K.	Examinatrice	M.C.A. U.M.B.B.
Mme AOUS W.	Encadrante	M.C.A. U.M.B.B.

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Avant tout nous remercions Allah le tout puissant, de nous avoir guidé tout au long de nos années d'études et de nous avoir donné la volonté, la patience et le courage pour achever ce travail.

Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus cordiaux et notre vive reconnaissance à notre encadrante, Mme AOUS Wahiba, qui a bien voulu accepter de diriger ce travail, pour son encouragement, ses conseils précieux, sa disponibilité, ses suggestions pertinentes, ses critiques constructives et pour sa patience tout au long de ce projet et sans lesquels, ce travail n'aurait pu aboutir.

Nous remercions les membres du jury, d'avoir accepté d'évaluer ce mémoire :

Mme NEFFAH Fadhila qui nous a fait l'honneur d'avoir accepté la présidence du jury de ce mémoire ainsi que, Mme ABDELLAOUI Karima d'avoir accepté d'examiner ce travail, qu'ils trouvent ici toute l'expression de notre profonde reconnaissance et notre respect.

*Nous remercions tous ceux qui nous ont aidés dans ce travail
BISSAAD Fatma, KARMACHE Samira, GUERNICHE Aya.*

*Nous remercions également l'équipe d'INPV DBK, en particulier
Mme KEBIR et Mme HASNAOUI.*

Nous remercions Mr OUELD RABAH Ismail, pour tous ses conseils, et sa confiance en nous depuis notre entrée à l'université et bien sur nous remercions notre chef département Mr ADJLAN Nouredin pour ses efforts sur nous et sa quête pour atteindre toujours le meilleur.

Nous souhaitons à tous le succès.



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A celui qui a quitté la vie, mais il est toujours dans mon cœur, à mon père.

A celle qui m'a transmis la vie, l'amour, le courage, à toi maman toutes mes joies, mon amour et ma reconnaissance.

A mes frères Karim, Hamza à mes grands-mères, à toute ma famille LAGUEL, DALI à mes tantes, mes oncles et leurs enfants.

A mes meilleurs Hayat et Assia en témoignage de l'amitié sincère qui nous a liées et des bons moments passés ensemble. Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir radieux et plein de bonnes promesses et sachez que jamais je ne pourrai oublier ce . que vous avez fait pour moi

Aux amis d'enfances Yasmine, Imane, Nessrine depuis l'enfance à aujourd'hui nous sommes toujours ensemble el-hamdolilah

A quelqu'un qui ma soutient toujours dans ma vie.

Je vous aime tous.

SOUMEYA



Dédicaces

*Du profond de mon Cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui
me sont cher*

A ma très chère mère

*Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier
comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me
guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force
pour affronter les différents obstacles.*

A mon très cher père

*Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager.
Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection*

A mes belles sœurs

*Hanane Hasna Meriem j'importe Dieu a vous apporte bonheur et
vous aide à réaliser vos vœux*

A mes meilleurs amis

*Soumeya et Hayet en témoignage de l'amitié sincère qui nous a
liées et des bons moments passés ensemble. Je vous dédie ce travail
en vous souhaitant un avenir radieux et plein de bonnes
promesses et sachez que jamais je ne pourrai oublier ce que vous
avez fait pour moi.*

ASSIA



SOMMAIRE

Introduction.....	1
--------------------------	----------

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE I: Les huiles essentielles

I. Huiles essentielles.....	5
I.1. Définition.....	5
I.2. Localisation des huiles essentielles dans les végétaux.....	5
I.3. Domaines d'utilisation des huiles essentielles.....	6
I.4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	6
I.4.1. Distillation.....	7
I.4.1.1. Hydrodistillation.....	7
I.4.2. Entraînement à la vapeur d'eau.....	8
I.4.2.1. Hydrodiffusion.....	9
I.4.3. Extraction aux solvants organiques.....	9
I.4.4. Extraction à froid.....	10
I.4.5. Extraction au CO2 supercritique.....	11
I.4.6. Extraction assistée par micro-ondes.....	11
I.5. Classification des huiles essentielles.....	12
I.5.1. Terpénoïdes.....	12
I.5.2. Composés aromatiques.....	13
I.6. Propriétés des huiles essentielles.....	14
I.6.1. Propriétés physiques et organoleptiques.....	14
I.8. Méthodes d'analyse des huiles essentielles.....	14
I.8.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	14
I.8.2. Spectrométrie de masse.....	16

I.8.3. Couplage CPG/SM.....	16
I.9. Conservation des huiles essentielles.....	17
I.10. Toxicité des huiles essentielles.....	18
I.11. Activités biologiques des huiles essentielles.....	18
I.11.1. Activité antioxydant.....	18
I.11.2. Activité antibactérienne.....	19
I.11.3. Activité antifongique.....	19

CHAPITRE II: Les plantes étudiées

II.1. Mentha pulegium L.....	22
II.1.1. Description botanique.....	22
II.1.2. Habitat.....	22
II.1.3. Intérêt économique, pharmacologique et nutritionnel.....	23
II.1.4. Classification.....	24
II.1.5. Nomenclature.....	24
II.1.6. Composition chimiques.....	25
II.1.7. Usages traditionnels.....	25
II.1.8. Phytochimie.....	25
II.2. Cymbopogon schoenanthus.....	26
II.2.1. Description Botanique.....	26
II.2.2. Origine et répartition géographique.....	26
II.2.3. Classification.....	27
II.2.4. Nomenclature.....	27
II.2.5. Utilisation traditionnelle.....	27
II.2.6. Composition chimique.....	27

Chapitre III: Les champignons phytopathogènes étudiées

III. Champignons phytopathogènes étudiées.....	30
III.1. Fusarium.....	30

III.1.1. Fusarium pseudograminearum.....	30
III.1.2. Fusarium oxysporum.....	30
III.1.2.1. Classification.....	31
III.1.2.2. Dégâts.....	31
III.1.2.3. Moyens de luttés.....	32
III.2. Verticillium dahliae.....	33
III.2.1. Classification.....	34
III.2.3.Dégâts	34
III.2.4. Moyens de luttés.....	35
III.2.4.1 Lutte chimique.....	35
III.2.4.2. Lutte biologique.....	35
III.2.4.3. Lutte intégrée.....	35
III.3. Alternaria spp.....	36
III.3.1. Alternaria alternata.....	36
III.3.1.1 Classification.....	37
III.3.1.2. Dégâts.....	37
III.3.1.3. Moyens de luttés.....	37
III.3.1.3.1. Lutte chimique.....	37
III.3.1.3. 2. Lutte biologique.....	38

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre IV: Matériel et méthodes

IV.1. Objectif de l'étude.....	41
IV.2. Matériel biologique.....	41
IV.2.1. Matériel végétal.....	41
IV.2.2 Matériel fongique.....	42
IV.3. Préparation de milieu de culture utilisé.....	42
IV.4. Méthode d'isolement et de purification champignon.....	42

IV.4.1. Isolement.....	43
IV.4.2. Repiquage du champignon.....	43
IV.5. Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles.....	43
IV.5.1. Préparation des suspensions fongiques.....	43
IV.5.2. Etude qualitative de l'effet antifongique des huiles essentielles étudiées par la méthode de diffusion sur milieu gélosé (Aromatogramme).....	44
IV.5.2.1. Principe d'aromatogramme.....	44
IV.5.2.2. Détermination des diamètres de zones d'inhibition de la croissance.....	45
IV.5.2.3. Analyses statistiques.....	45

Chapitre V: Résultats et discussion

V.1. Evaluation de l'activité antifongique.....	47
V.1.1. Action de l'huile essentielle de Mentha pulegium.....	47
V.1.2. Action de l'huile essentielle de Cymbopogon schoenanthus.....	51
V.1.3. Comparaison de l'activité antifongique des deux huiles essentielles Mentha pulegium et Cymbopogon schoenanthus.....	55
Conclusion et perspectives.....	58
Références.....	59

Annexes

Résumé

Liste des tableaux

Tableau 1	Localisation des huiles essentielles dans quelques végétaux.	6
Tableau 2	Propriétés physiques et organoleptiques de certaines huiles essentielles.	14
Tableau 3	Taxonomie de la Menthe pouliot.	24
Tableau 4	Composition chimique de l'HE de <i>Mentha pulegium</i> .	25
Tableau 5	Taxonomie de la Cymbopogon schoenanthus.	28
Tableau 6	Taxonomie de <i>Fusarium oxysporum</i> .	32
Tableau 7	Taxonomie de <i>Verticillium dahlia</i> .	35
Tableau 8	Taxonomie <i>D'Alternaria Alternata</i> .	38
Tableau 9	Diamètres des zones d'inhibition de la croissance mycélienne obtenus par les huiles essentielles testées du <i>Mentha pulegium</i> .	49
Tableau 10	Analyse de la variance des diamètres de zones (mm).	50
Tableau 11	Test de Newman-Keuls (SNK) des diamètres des zones d'inhibition (mm).	51
Tableau 12	Diamètres des zones d'inhibition de la croissance mycélienne obtenus par les huiles essentielles testées du <i>Cymbopogon schoenanthus</i> .	53
Tableau 13	Analyse de la variance des diamètres de zones (mm).	55
Tableau 14	Test de Newman-Keuls(SNK).	55

Liste des Figures

Figure01	Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle.	6
Figure02	Principe schématisé de l'appareillage de l'hydrodistillation.	7
Figure03	Principe schématisé de l'appareillage d'entraînement à la vapeur d'eau.	8
Figure04	Principe schématisé de différentes étapes d'hydrodiffusion.	9
Figure05	Appareil à extraction expérimental de Soxhlet.	10
Figure06	Méthodes d'isolement d'huiles essentielles des agrumes.	10
Figure07	Schéma du système d'extraction par fluide supercritique.	11
Figure08	La structure de la molécule d'isoprène.	12
Figure09	Les structures chimiques des terpénoïdes.	13
Figure10	Les structures chimiques des composés aromatiques.	13
Figure11	Schéma du Principe de la chromatographie en phase gazeuse.	15
Figure12	Schéma du Principe du fonctionnement du couplage.	17
Figure13	<i>Menthapulegium</i> L (Menthe Pouliot).	23
Figure14	<i>Cymbopogon schoenanthus</i> L.	27
Figure15	Huiles essentielles de <i>C. schoenanthus</i> et <i>M. pulegium</i> .	42
Figure16	Préparation du milieu PDA.	43
Figure17	Illustration de la method d'aromatogramme.	46
Figure18	Diamètres des zones d'inhibition <i>Alternaria alternata</i> .	48
Figure19	Diamètres des zones d'inhibition <i>Fusarium spp.</i>	48
Figure20	Diamètres des zones d'inhibition de la croissance mycélienne sur les souches testées par la <i>Mentha pulegium</i> .	50
Figure21	Diamètres des zones d'inhibition de la <i>Fusarium oxysporum</i> .	52
Figure22	Diamètres des zones d'inhibition de <i>Verticillium dahliae</i> .	52
Figure23	Diamètres des zones d'inhibition de la croissance mycélienne sur les souches testées par la <i>Cymbopogon schoenanthus</i> .	54

Figure24	Comparaison des diamètres moyens des deux huiles <i>essentielles</i> <i>Menthapulegium et Cymbopogon schoenanthus.</i>	57
-----------------	---	----

Liste des symboles et abréviations

AFNOR: Association Française de Normalisation.

°C: degré Celsius.

CG/SM: Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse.

CPG: Chromatographie en Phase Gazeuse.

Cymbopogon schoenanthus: Citronnelle.

DMSO: DMSO ou diméthylsulfoxyde.

ENSA: Ecole Nationale Supérieure Agronomique.

g: gramme.

h: heure.

HD: Hydrodistillation.

HE: Huile essentielle.

Mentha pulegium: Menthe pouliot.

mm: Millimètre.

ml: Millilitre.

PDA : Potatos Dextrose Agar.

SM: Spectrométrie de Masse.

µg : Microgramme.

µl: Microlitre.

Umbb: Université M'Hamed Bougara de Boumerdés.

%: Pourcentage.

Introduction

Les champignons phytopathogènes sont reconnus comme menaces mondiales à la sécurité alimentaire humaine (**The Institute of Medicine, 2011**). Ces champignons ont un mode de vie parasite, ils vivent sur un hôte (végétal) qu'ils infectent pour se nourrir et se reproduire, au détriment de celui-ci (**Dyakov, 2007 ; Poulin, 2007**). Ils constituent la première cause de maladie des plantes (**Deacon, 2005**) et influent sur la démographie de leurs hôtes, voire peuvent conduire à l'extinction de certaines espèces végétales.

Depuis des milliers d'années, l'homme a utilisé les plantes médicinales trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies (**Sanagos, 2006**).

Les plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire. Les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments, déjà environ 170000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes (**Chaabi, 2008**).

Les plantes médicinales aromatiques constituent une source essentielle de substance bioactifs à des propriétés biologiques divers (antioxydants, antibactérienne, antifongique...etc).

Les huiles essentielles ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisaient autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. La connaissance des huiles essentielles remonte à fort longtemps puisque l'homme préhistorique pratiquait déjà, à sa manière, l'extraction des principes odorants des plantes (**Robert, 2000**).

Les HEs ont trouvé leur place dans l'aromathérapie, la pharmacie, la parfumerie, la cosmétique et la conservation des Aliments. Leur utilisation est liée à leur large spectre d'activités biologiques (**Cimanga et al ., 2002**) ; (**Caccioni et al., 1994**) ; (**Cowan et al., 1999**) ; (**Lamiri et al 2001**) ; (**Nielsen et al., 2000**).

Durant ces deux dernières décennies, face à la résistance microbienne, la recherche de nouvelles substances à activité biologique ainsi que le recours au traitement par les plantes deviennent une des plus grandes préoccupations scientifiques (**Nyah Njike et al. 2007**).

La lutte biologique contre les phytopathogènes par les HEs et extraits de la matière végétale sont l'une des solutions trouvées pour ce problème, dont plusieurs travaux de recherche ont

noté leur activité antimicrobienne (**Satrani *et al*, 2006 - Kalemba, 2003**). Et spécifiquement antifongique (**El Ajjouri *et al*, 2008**).

La production des métabolites antibiotiques ou antifongiques est importante pour la lutte contre les microorganismes phytopathogènes du sol (**Schottel *et al*, 2001 ; Raaijmakers *et al*, 2002 ; El-Tarabilya et Sivasithamparam, 2006**).

De nombreux travaux aussi bien dans le monde qu'en Algérie ont été réalisés sur les huiles essentielles étudiées *Cymbopogon schoenanthus*, *Mentha pulegium*, nous citons ; les travaux de Hmiri (2011) au , Gbogbo (2006) ,Satran,(2011) et Ouraini(2005) et en Algérie Aous(2015) , Edris(2003) et Farrag(2003) et ce présent travail vient complété ces travaux.

L'objectif de notre travail est basé sur l'évaluation de l'activité antifongique de deux huiles essentielles issues de plantes cultivées, dans notre pays. Il s'agit de l'huile *de Cymbopogon schoenanthus et de Mentha pulegium*.

La première partie de cette étude est consacrée à une recherche bibliographique concernant les huiles essentielles, une description botanique des espèces étudiées, et un rappel sur les microorganismes potentiellement phytopathogènes.

Dans la deuxième partie, nous présenterons le matériel utilisé, les méthodes et les techniques appliquées au laboratoire.

Dans la troisième partie on traitera les résultats obtenus et leurs interprétations.

On termine le travail par une conclusion générale et perspectives.

DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE I

Les huiles essentielles

I. Huiles essentielles

I.1. Définition

Les produits aromatiques font partie de la médecine et de la pharmacie depuis l'Antiquité et via le monde arabe ont été introduits en Europe. Les HE sont décrits dans les pharmacopées occidentales depuis un siècle environ. L'aromathérapie est apparue en France dans les années 1930 mais n'a pas de statut légal en Europe et elle y est souvent exercée en dehors du milieu médico- pharmaceutique malgré les risques liés à un mauvais usage. Très complexes sur le plan chimique, peu connues sur les plans pharmacologique et clinique, les HE sont souvent coûteux et sujettes à diverses falsifications, très actives mais potentiellement toxiques. **(Angenote, 2014).**

Le terme « huile essentielle » fut inventé par le médecin suisse Paracelsus Von Hohenheim afin de désigner le composé actif d'un remède naturel **(Porter, 2001).**

Une huile essentielle est un liquide aromatique issu de plantes. On l'extrait de certains organes fleur, feuille, écorce, racine, graine... de plantes riches en essences odorantes. Elle se présente le plus souvent en petit flacon de 5 ou 10 ml. Huiles essentielles de lavande, de citron, d'eucalyptus... une cinquantaine d'entre elles sont couramment disponibles. Se soigner avec les huiles essentielles s'appelle « l'aromathérapie ».

Et on peut dire aussi que :

Les huiles essentielles sont extraites de plantes dites aromatiques. Très répandues dans la nature, ces plantes sont classées en grandes familles comme les Myrtacées ou les Pinacées. Elles poussent dans le monde entier, chacune ayant sa zone géographique et son climat de prédilection. À chaque pays, à chaque zone géographique et à chaque terroir même, correspond une huile essentielle unique. Car, selon la terre, le climat, l'environnement où elle pousse, une même plante fabriquera des essences différentes (parfois TRÈS différentes). **(Festy, 2014).**

I.2. Localisation des huiles essentielles dans les végétaux

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieures, il y'aurait environ 17500 espèces aromatiques. C'est tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle la composition de cette dernière varie selon sa localisation (feuilles, tige, racine, graines) **(Bruneton, 1999).**

Tableau 01 : Localisation des huiles essentielles dans quelques végétaux (Pibiri, 2005).

Exemples	Localisation	Exemples	Localisation
Ail	Bulbe	Cèdre	Bois
Gingembre	Rhizome	Cannelle	Ecorce
Petits grains	Tige	Citronnelle	Feuille
Orange	Fruit	Pin	Bourgeon
Anis, Muscade	Grains	Rose, Ylang-ylang	Fleur
Vétiver	Racine	Encens, Myrrhe	Sève

I.3. Domaines d'utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles occupent une place considérable sur le marché et dans différents domaines, pharmaceutique, l'industrie de cosmétique et des produits d'hygiène, parfumerie et surtout dans le secteur des industries agro-alimentaires utilisées comme des épices et des aromates afin d'améliorer la qualité gustative des produits alimentaire. (Bruneton, 1999).

I.4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les étapes de l'extraction des huiles essentielles restent identiques quel que soit le type d'extraction utilisé. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire les aromatiques constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation (Lucchesi, 2005).

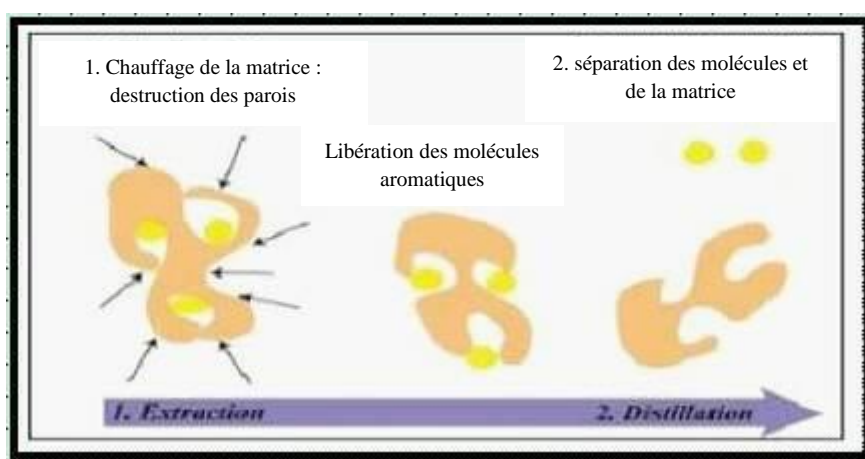


Figure 1 : Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle (Lucchesi, 2005).

La méthode choisie pour l'extraction des huiles essentielles doit être la plus efficace et qui donnerait une huile essentielle de très bonne qualité, un rendement élevé avec un coût économique faible, l'huile essentielle obtenue doit être limpide, concentrée, d'odeur fine caractéristique de la partie de la plante utilisée et ne doit contenir aucune trace de solvant, l'obtention des huiles essentielles fait appel à plusieurs méthodes:

La distillation

L'extraction aux solvants organiques

L'expression à froid et d'autres méthodes (**Garnero, 2001**).

I.4.1. Distillation

La distillation à la vapeur d'eau est répandue pour l'extraction des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques. Elle est simple dans son principe, et utilise un équipement peu coûteux. Elle se présente sous trois variantes: l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur et l'hydrodiffusion (**Silou *et al.*, 2004**).

I.4.1.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode la plus employée pour extraire les huiles essentielles. Cette méthode consiste à immerger directement la partie de la plante à extraire dans l'eau chauffée jusqu'à l'ébullition pendant 3 heures. L'huile essentielle est évaporée avec la vapeur d'eau. Ces derniers sont hétérogènes sont alors condensés à l'aide d'un réfrigérant. Le distillat est ensuite récupéré dans un erlenmeyer (**Fakhari *et al.*, 2005**).

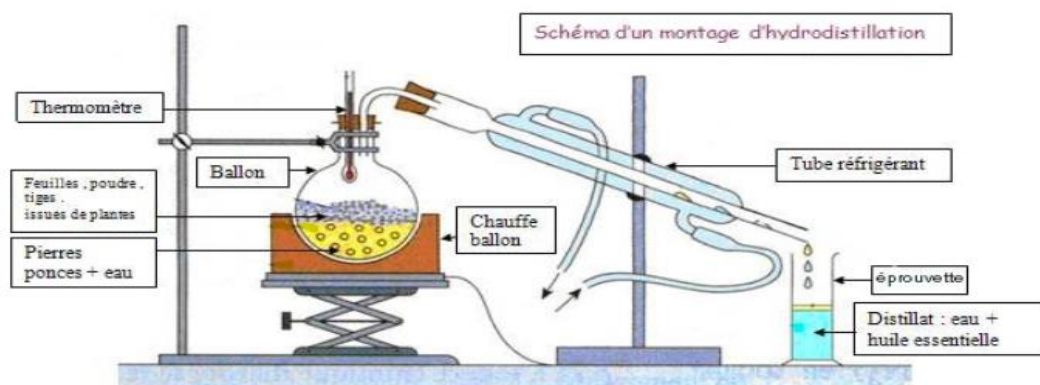


Figure 2 : Principe schématisé de l'appareillage de l'hydrodistillation

(spcgaylu.pagesperso-orange.fr).

L'eau et molécules aromatiques du fait de leurs différences de densité, se séparent en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation (cohobation). La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait. Afin de traiter des matières premières pour lesquelles il est difficile d'extraire l'huile essentielle ou l'hydrodistillation à pression pour les élevée essences difficilement entraînaibles, représente une bonne (Lucchesi, 2005).

I.4.2. Entraînement à la vapeur d'eau

Pour éviter certains phénomènes d'hydrolyse des composants de l'huile essentielle ou des réactions chimiques pouvant altérer les résultats de l'extraction. Cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale fraîche à traiter. la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, Les cellules se distendent et les particules d'huile se libèrent, La vapeur circule et chasse la plupart de ses composés parfumés volatils. Puis traverse un tube froid où elle sera condensée. Après 3 heures, le distillat est récupéré dans une fiole réceptrice puis séparé en une phase aqueuse et une phase organique (Roldan-Gutiérrez *et al.*, 2008).

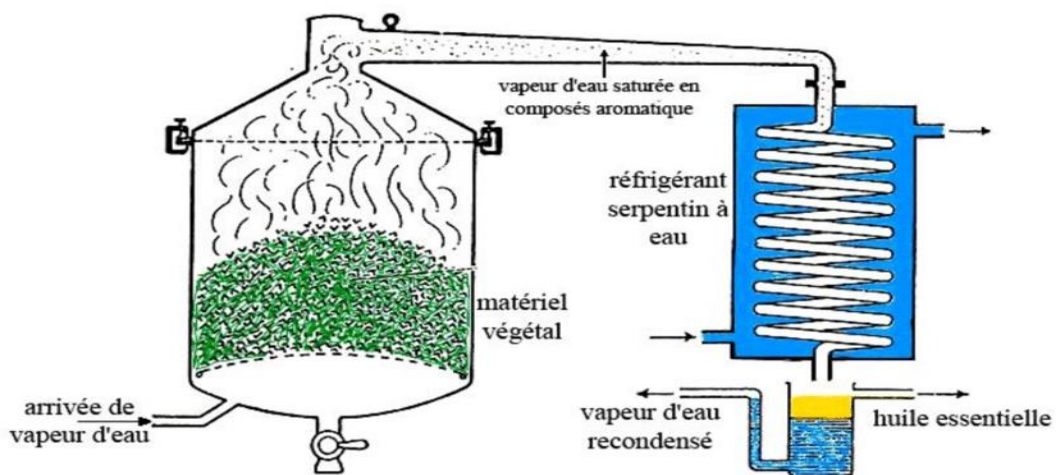


Figure 3 : Principe schématisé de l'appareillage d'entrainement à la vapeur d'eau (Chemat, 2005).

I.4.2.1. Hydrodiffusion

Consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression (0,02-0,15 bar) à travers la masse végétale, de haut vers le bas. La composition des produits obtenus est qualitativement différente de celle des produits obtenus par les méthodes précédentes. Ce procédé permet un gain de temps et d'énergie (**Bruneton, 1999**).

Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau huile essentielle » dispersé dans la matière végétale (**Lucchesi, 2005**).

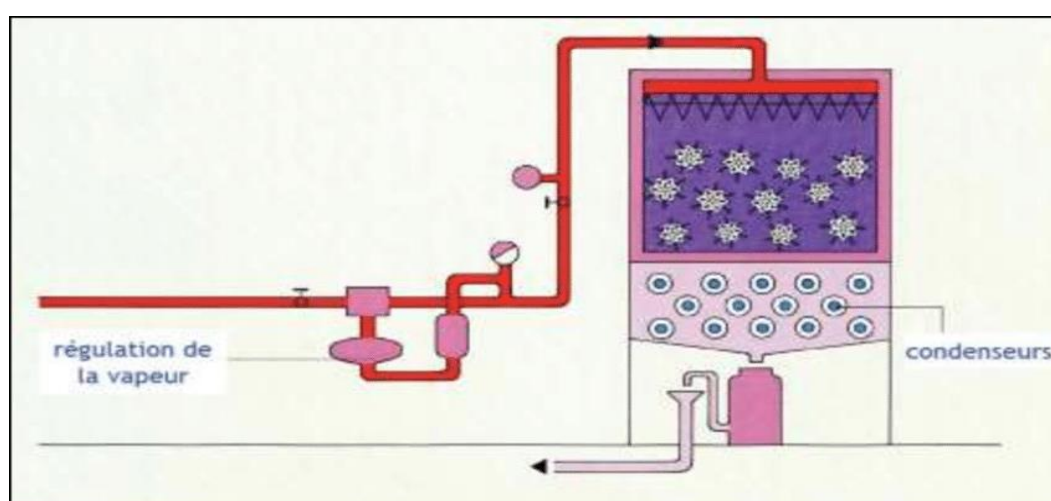


Figure 4 : Principe schématisé de différentes étapes d'hydrodiffusion (**Eddine, 2017**).

I.4.3. Extraction aux solvants organiques

Consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. Le produit obtenu est appelé « concrète ». Cette concrète pourra être par la suite brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales. et obtiendra une « absolue ».

Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait.

Parmi les solvants utilisés, sont le méthanol, l'éthanol et l'éther de pétrole L'appareillage le plus utilisé est celui de Soxhlet (**Lucchesi, 2005**).

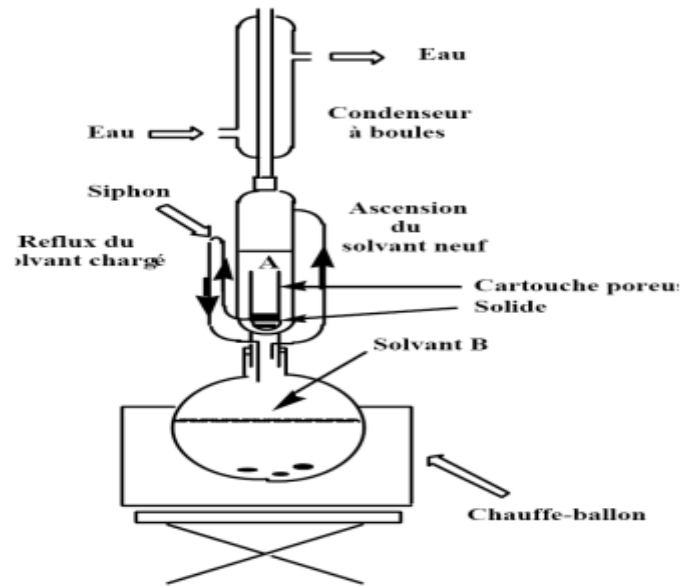


Figure 5 : Appareil à extraction expérimental de Soxhlet (Ben Amor,2008).

I.4.4. Extraction à froid

Les huiles essentielles de fruits d'agrumes sont des produits fragiles en raison de leur composition en terpènes et aldéhydes. C'est pourquoi, spécifiquement pour cette catégorie de matière première, est utilisé un procédé totalement différent d'une distillation classique qui est l'expression à froid (Lucchesi, 2005).

Le principe de cette technique est basé sur la rupture des parois des sacs oléifères contenues dans l'écorce des fruits; cette essence est ensuite entraînée par un courant d'eau froide. L'émulsion d'essence et d'eau isolée par décantation ou centrifugation. (Ferhat *et al.*, 2007).

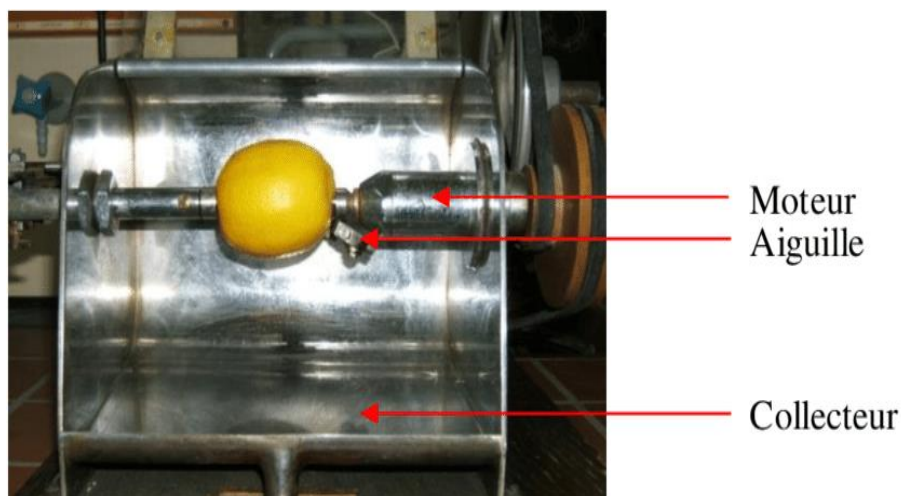


Figure 6 : Méthodes d'isolement d'huiles essentielles des agrumes (Ferhat *et al.*, 2007).

I.4.5. Extraction au CO₂ supercritique

Il s'agit du procédé le plus récent d'extraction à froid, des matières premières végétales utilisant le gaz carbonique sous pression et à température supérieur à 35°C, le dioxyde de carbone est employé principalement supercritique parce que c'est un solvant sain, inodore, sans comme un fluide non-combustible, peu coûteux, couleur, insipide, non-toxique, et aisément disponible. Sa viscosité basse lui permet de pénétrer la matrice pour atteindre le matériel à extraire, et sa basse chaleur latente d'évaporation est un moyen élevé de volatilité qui peut être facilement enlevé sans laisser un résidu de solvant. (Khajeh *et al.*, 2005).

Le gaz carbonique se trouve dans un état " supercritique ", la matière végétale est chargée dans l'extracteur puis le CO₂ est introduit sous pression ensuite Le fluide et les composés dissous sont transportés aux séparateurs, où la puissance supercritique du fluide est diminuée en diminuant la pression ou en augmentant la température. Le CO₂ reprend sa forme gazeuse et régénéré. Le produit est alors rassemblé par l'intermédiaire d'une valve localisé dans la partie plus inférieure des séparateurs. L'extrait végétal est isolé, la matière première ainsi obtenue est proche du produit naturel d'origine contenant aucune traces résiduelles de solvant (wang et weller, 2006).

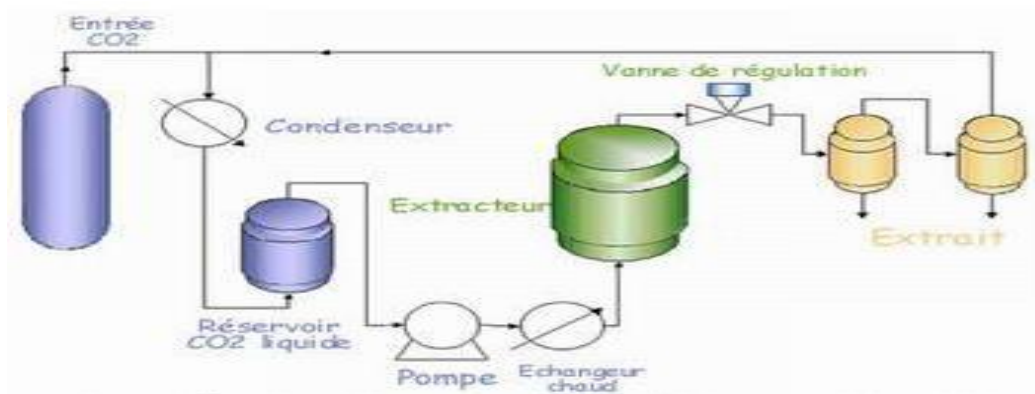


Figure 7 : schéma du système d'extraction par fluide supercritique (Ben Amor,2008).

I.4.6. Extraction assistée par micro-ondes

Le pouvoir énergétique des micro-ondes a été mis en évidence à la fin de la seconde guerre mondiale, d'une façon anecdotique par un physicien, le Dr Spencer, suite à l'oubli de son sandwich sur un émetteur d'ondes, alors que jusqu'ici, les micro-ondes étaient uniquement utilisées comme vecteur d'information, elles investissent les laboratoires de chimie dans les années 80.

Les premiers travaux utilisant les micro-ondes pour extraire des composés organiques ont été publiés par Ganzler, coll, Lane et Jenkins en 1986. Depuis cette date, l'extraction végétale assistée par micro-ondes a été le fruit de nombreuses recherches et de brevets (Lucchesi, 2005).

I.5. Classification des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: le groupe des terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques (Bruneton, 1999).

I.5.1. Terpénoïdes

Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes (qui sont des hydrocarbonés naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte leur formule brute est $(C_5H_X)_n$ avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldehyde, cétone, acide, lactone, etc.). Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène ; hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et polyterpènes (Figure 8) (Malecky, 2008).

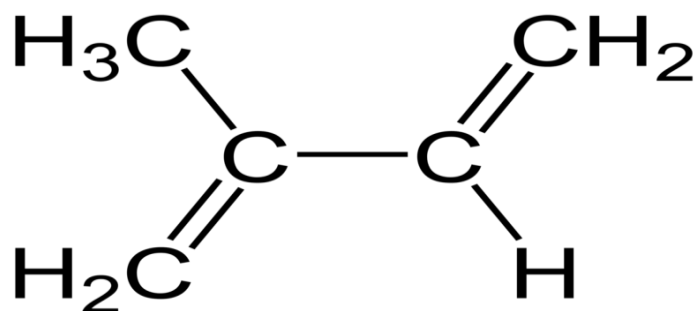


Figure 8 : La structure de la molécule d'isoprène (Malecky, 2008).

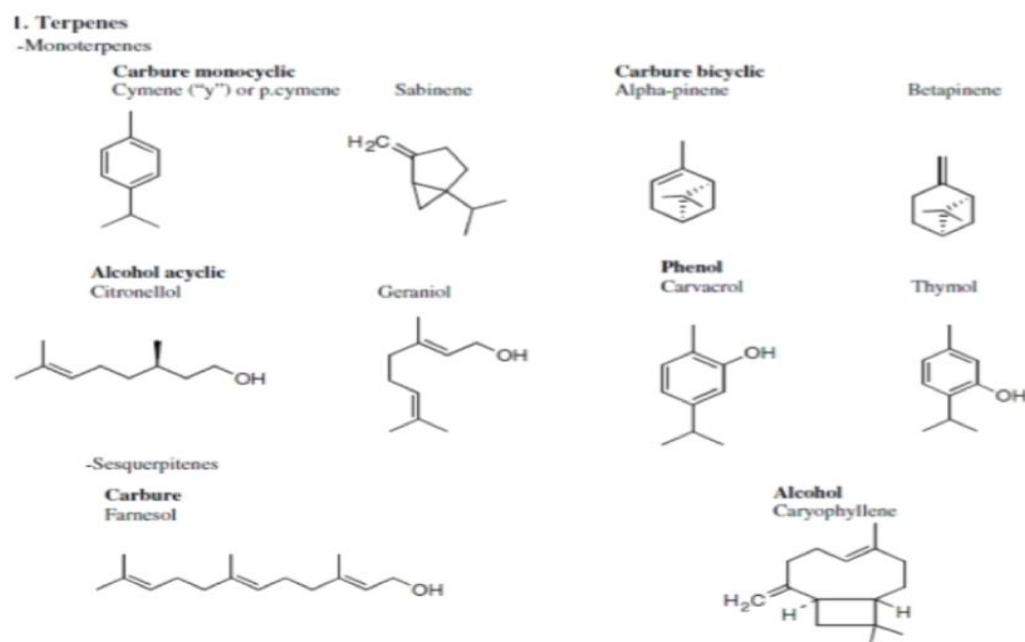


Figure 9 : Les structures chimiques des terpénoïdes (Bakkali *et al.*,2008).

I.5.2. Composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents que les précédents, ce sont très souvent des Allylphénols, Propénylphénols, Anéthol, Aisaldehyde, Apiol, (Estragol), Eugénol, Safrole, Asarones, Cinnamaldehyde, Cinnamyl alcohol, (Figure 10).

On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'authranilate de méthyle. Les lactones dérivées des acides cinnamiques (les coumarines). Étant, au moins pour les plus simples d'entre elles, entraînaient par la vapeur d'eau (Bakkali *et al.*, 2008).

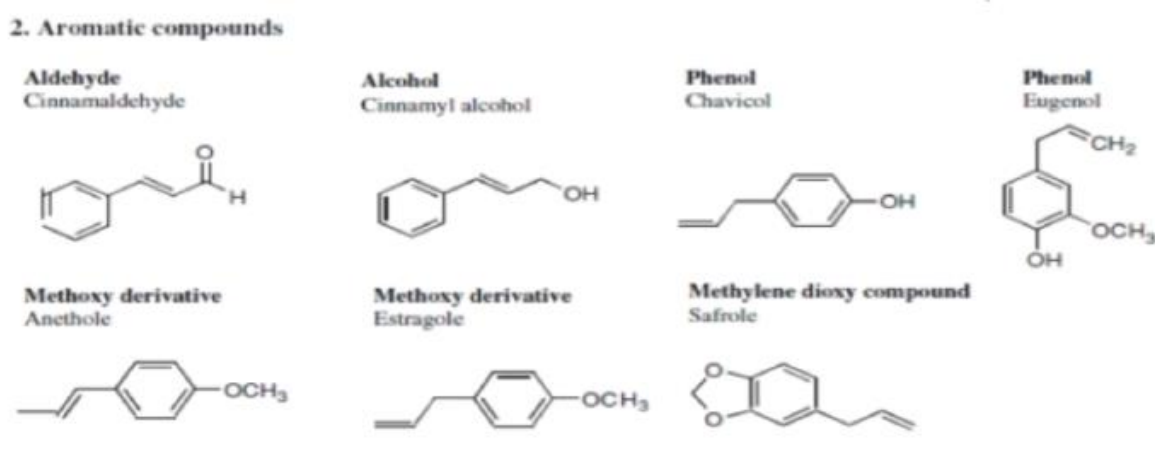


Figure 10 : Les structures chimiques des composés aromatiques (Bakkali *et al.*,2008).

I.6. Propriétés des huiles essentielles

I.6.1. Propriétés physiques et organoleptiques

Les huiles essentielles sont différencie des liquides volatils à la température ambiante des huiles « fixes », leurs densité est en général inferieur à celle de l'eau à l'exception de quelques HE de certaines espèces végétales comme le saffras, girofle et la cannelle. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. Solubles dans des solvants organiques et elles sont liposolubles (**Bruneton, 1999**).

Tableau 02 : propriétés physiques et organoleptiques de certaines huiles essentielles (**Garnero, 2001**).

Huile essentielle	Couleur	Odeur	Densité (g/ml)	Pouvoir rotatoire	Indice de réfraction
Rose	Jaune claire	Rosée	0.84	-4.8° à -2.2	1.45
Thym	Brun rouge	Légèrement Epicé	0.91	-3° à 0°	1.49 à 1.50
Girofle	Jaune à brun clair	Odeur épicée	1.04 à 1.05	-1° à 1°	1.53
Romarin	Jaune pâle Au vert-jaunâtre	Camphrée	0.90	-1° à -16°	1.47
Géranium	Jaune ambrée à jaune vert	Rosée légèrement menthé	0.88	-14° à -10°	1.47
Citronnelle	Jaunâtre à brin	Rosée Citralée	0.89	-22° à -12°	1.48

I.8. Méthodes d'analyse des huiles essentielles

I.8.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La CPG est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Les progrès technologiques

réalisés dans le domaine des colonnes capillaires, des phases stationnaires et des détecteurs ont contribué à rendre la CPG incontournable pour la caractérisation des HEs. La chromatographie en phase gazeuse est constituée de trois modules : un injecteur, une colonne capillaire dans le four et un détecteur. Le mode d'injection le plus répandu est l'injection en "split" ou injection avec "division de flux", il est utilisé pour l'analyse de solutions concentrées. L'injection se fait à haute température. L'échantillon est rapidement introduit dans l'injecteur où il est instantanément vaporisé et mélangé au gaz vecteur (hélium, azote, argon, ou hydrogène). Une électrovanne permet de régler le débit de fuite. Ce procédé permet de faire en sorte qu'une fraction importante du flux gazeux soit évacuée, diminuant ainsi la quantité d'échantillon qui pénètre dans la colonne et évitant de saturer la phase stationnaire (Bouchonnet et Libong, 2002).

Le four contient l'élément clé de la séparation chromatographique la colonne analytique. Cette colonne peut être de deux types : colonne remplie ou colonne capillaire. Dans le cas des HEs, les colonnes capillaires semblent plus adaptées ; elles sont en métal, en verre ou plus souvent en silice fondue. Les substances de l'échantillon traversent la totalité de la colonne où est placée la phase stationnaire. Les constituants d'un mélange sont séparés en fonction de leur polarité si la phase stationnaire est polaire, de leur volatilité si cette dernière est apolaire. Leurs différences de propriétés physicochimiques leur confèrent des vitesses d'éluion et ils sont donc séparés en fonction du temps. Ils arrivent à l'extrémité de la colonne, ils sont alors détectés et enregistrés. La chromatographie en phase gazeuse permet donc de séparer un mélange gazeux complexe par succession continue d'équilibre entre phase mobile gazeuse et phase stationnaire (Figure 11) (Besombes, 2008).

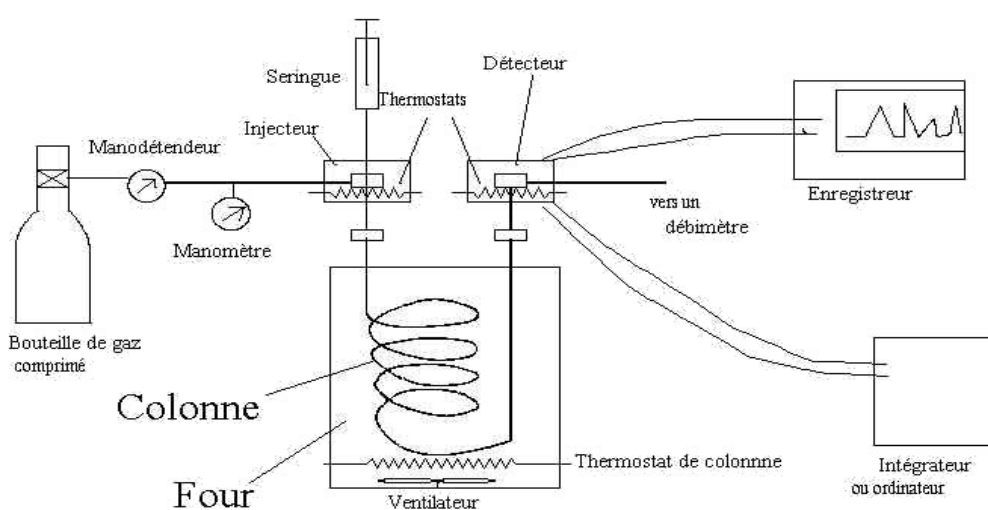


Figure 11 : Schéma du Principe de la chromatographie en phase gazeuse (Besombes, 2008).

Le développement des phases stationnaires et de la CPG multidimensionnelle a permis de surmonter certaines difficultés rencontrées dans la séparation et l'identification des composés dans les HEs. Ainsi, la CPG bidimensionnelles (CPG/CPG), mettant en ligne deux colonnes capillaires, permet la séparation, l'identification et la quantification de composés minoritaires pouvant couler avec les composés plus abondants. L'échantillon est injecté dans la première colonne, puis les composés qui coulent sont transférés dans une deuxième colonne pour être séparés (Paolini, 2005).

I.8.2. Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse (SM) désigne une méthode d'analyse qui repose sur la détermination des masses des espèces atomiques ou moléculaires individuelles de l'échantillon à analyser, ce qui permet de réunir des informations relatives à sa structure (Constantin, 1986). Cette dernière est basée sur le calcul direct du rapport de la masse au nombre de charges élémentaires (M/Z), positif ou négatif, d'ions en phase gazeuse obtenus à partir de la substance à analyser. Les ions formés dans la source de l'appareil, sont accélérés, puis séparés par l'analyseur avant de rejoindre le "détecteur". L'ensemble de ces opérations s'effectue dans une enceinte où est maintenu grâce à un groupe de pompage un vide de 10^{-3} à 10^{-6} Pa. Le spectre obtenu représente l'abondance relative des différentes espèces ioniques, comme une fonction de M/Z ; le signal correspondant à un ion comporte plusieurs pics correspondant à la distribution statistique des différents isotopes qui le constitue. On parle de "profil isotopique" et, au moins dans le cas des molécules de petites taille, le pic correspondant aux isotopes les plus abondants de chaque atome est appelé "pic mono isotopique" (Aous, 2015) in (Viala, 1998).

I.8.3. Couplage CPG/SM

La simplicité du couplage entre ces deux techniques, les progrès accomplis dans le traitement en temps réel du signal, la constitution de banques de données de spectres de masse et le développement des algorithmes de comparaison entre le spectre d'un composé inconnu avec ceux répertoriés dans les banques ont à l'origine de la généralisation de l'usage de la CPG/SM dans les laboratoires d'analyse des composés aromatiques.

La CPG sur colonne capillaire constitue une excellente méthode d'introduction de l'échantillon dans le spectromètre de masse. Ainsi, la colonne capillaire est directement couplée à la source d'ions permettant l'ionisation des constituants. Il existe deux modes

d'ionisation : l'ionisation chimique (IC) et l'ionisation par impact électronique (IE). Ce dernier mode est le plus répandu dans le domaine des huiles essentielles, le seul qui permet une étude systématique de la structure des ions moléculaires et fragments formés.

Le principe de la CPG/SM (IE) réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse/charge (m/z). A la sortie de la colonne, les molécules arrivent au niveau de la source d'ionisation, elles entrent en collision avec un flux d'électrons obtenus par effet thermoélectronique à partir d'un filament en rhénium. Ces électrons leur arrachent un autre électron générant des cations radicalaires, appelés aussi ions moléculaires M^+ (Cavalli, 2002).

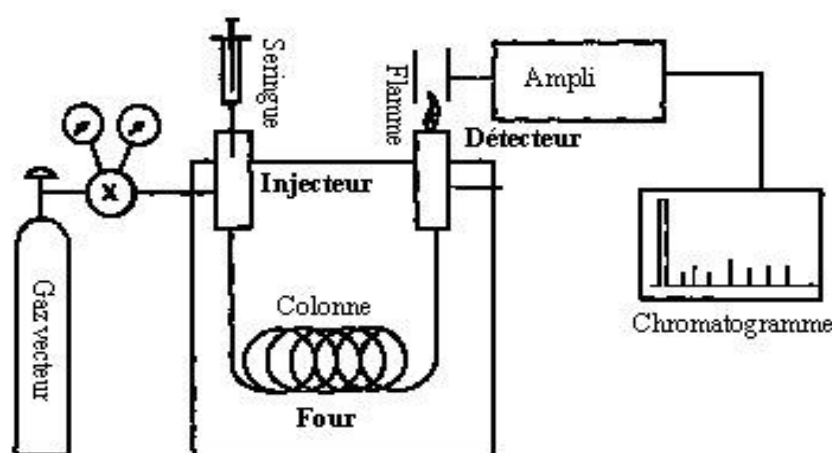


Figure 12 : Schéma du Principe du fonctionnement du couplage (Besombes, 2008).

I.9. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années sous certaines conditions, jusque cinq ans pour les H.E.C.T par exemple. Seules les essences de Citrus se gardent un peu moins longtemps (trois ans).

Les huiles essentielles sont volatiles, il ne faut donc pas oublier de bien fermer les flacons. Il est préférable de les conserver dans un flacon en aluminium ou en verre teinté (brun, vert, ou bleu) et de les garder à l'abri de la lumière une température ambiante jusque vingt degrés.

Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des huiles essentielles (norme AFNOR NF T 75-001, 1996) ainsi que sur le marquage des récipients contenant des HE (norme NF 75-002, 1996). (Florence, 2012).

I.10. Toxicité des huiles essentielles

La toxicocinétique des huiles essentielles est difficile à établir. En effet, si l'on peut étudier et décrire les effets biologiques et/ou pharmacologiques d'un monoterpène ou sesquiterpène pur, il est difficile (voire impossible) de parler de pharmacologie pharmacocinétique ou de métabolisme d'une huile essentielle, c'est-à-dire d'un mélange d'une centaine de composés. **(Bruneton, 1999)**.

Généralement, l'action d'une huile essentielle est réduite à celle du ou des composés principaux, alors que l'on admet que même les molécules présentes sous forme de traces participent aux propriétés de celle-ci. **(Poirot, 2016)**.

I.11. Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, anti-oxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses **(Valnet, 2005)** L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à son «totum» ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires **(Lahlou, 2004)**.

I.11.1. Activité antioxydant

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir **(Richard, 1992)**.

Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne autocatalytique de l'oxydation **(Multon, 2002)**.

En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que le complexe formé par des ions métalliques ou la réduction d'oxygène **(Madhavi et al, 1996)**.

Des études de l'équipe constituant le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS-IAF, ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts ...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande,

charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers ...) contribuent à le préserver des phénomènes d'oxydation (**Caillet et Lacroix, 2007**).

I.11.2. Activité antibactérienne

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HEs, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (**Carson et al., 2002**).

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HEs sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la forcemotrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (**Davidson, 1997**).

Le mode d'action des HEs dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane (**Cox et al, 2000 ; Carson et al, 2002**).

Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* aussi été rapportée (**Wendakoon et Sakaguchi, 1995**).

Les HEs peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides (**Cox et al., 2000**).

Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides pariétaux grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (**Dorman et Deans, 2000**).

I.11.3. Activité antifongique

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (**Lis-Balchin, 2002**).

Selon **Voukou et al (1988)**, les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des *Labiatae* : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc ... Etant donné la grande complexité de la composition chimotypique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques. Ils concluent que les phénols (eugénol, chavicol 4-allyl-2-6-

diméthoxyphénol) sont plus antifongiques et que les aldéhydes testés (cinnamique et hydrocinnamique). Ils présentent également des propriétés fongistatiques très marquées. Les groupements méthoxyl, à l'inverse, ne semblent pas apporter à ce type de molécules une fongitoxicité significative. Cette activité est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance déterminée par simple observation macroscopique.

L'activité antifongique décroît selon le type de fonction chimique : Phénols> Alcools> Aldéhydes> Cétones> Ethers> Hydrocarbures. Parmi les aldéhydes aliphatiques, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actif. En ce qui concerne les composés phénoliques, l'activité antifongique augmente avec l'encombrement stérique de la molécule (p-n-propylphénol> thymol> iso-eugénol> eugénol) (Utree et al., 2002).

Chao et al (2000) ont expliqué que l'addition de groupements alkyls au noyau benzène du phénol augmente le caractère antifongique. Par conséquent, un certain degré d'hydrophobicité des composés phénoliques ou aldéhydes aromatiques paraît donc requis pour exprimer une caractéristique antifongique optimale. L'activité des terpènes des huiles essentielles est en corrélation avec leur fonction chimique. Avec leurs travaux ils ont montré l'importance de la spécification du genre et de l'espèce, ainsi que de la variété de la plante d'où provient l'extrait.

Chapitre II
Les plantes étudiées

II.1. *Mentha pulegium* L.

II.1.1. Description botanique

Mentha pulegium L. est une Herbe vivace très odorantes. Inflorescence formée de nombreux verticillastres denses, feuillés, distants. C'est une plante glabre à Calice presque bilabié. Plante de 10-30 cm très fréquente dans les lieux inondés en hiver et assez commune surtout dans le Tell (**Quezel et Santa , 1962-1963**).

Les tiges quadrangulaires, rameuses, velue, grisâtre ou glabrescente ; feuilles petites courtement pétiolées, oblongues, longues de 15 à 25 mm, crénelées sur les bords (**Beloued , 2009**). Les fleurs, qui apparaissent l'été, de juillet à fin septembre, sont rose lilas, parfois blanches échelonnées le long de la tige (**Gamisans et Jeanmonod, 1993**).

Le fruit est un tétrakène, chaque akène renfermant une graine d'environ 0,5 mm de long et d'un brun brillant. L'habitat de la plante est très variable. La floraison a lieu de juillet à septembre. (**Teuscher et al., 2005**).

La multiplication se fait par semis au printemps ou par division des racines réalisée à l'automne ou au printemps. La plante préfère les sols humides, sablonneux et acides, mais est très sensible au gel. Une des semences disponibles dans le commerce correspond à la « menthe pouliot d'Erfurt » (**Teuscher et al., 2005**).

II.1.2. Habitat

Mentha pulegium, très répandue dans l'aire méditerranéenne, est connue sous le nom de « menthe pouliot ». Elle est fréquente dans les milieux humides et elle est parfois cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles très aromatiques. Le nom de « pouliot » vient du latin pulegium, qui dérive de pulex : la puce ; la plante ayant la propriété d'éloigner les puces. Malgré son utilisation ancestrale pour aromatiser les sauces, les desserts et les boissons, son intérêt économique demeure limité.

C'est une espèce spontanée dans l'ensemble de l'Europe, l'Asie, l'Amérique et le nord de l'Afrique (du Maroc à l'Égypte). (**Gamisans et Jeanmonod, 1993**).

Principaux pays producteurs : les États-Unis, le Maroc et l'Espagne.

Principaux pays exportateurs : les parties aériennes sont peu commercialisées alors que l'huile essentielle est exportée par les États-Unis. (**Teuscher et al., 2005**).

II.1.3. Intérêt économique, pharmacologique et nutritionnel

Cette famille est une importante source d'huiles essentielles, d'infusion et antibiotiques pour l'aromathérapie, la parfumerie et l'industrie des cosmétiques. On y rencontre beaucoup d'espèces cultivées comme plantes condimentaires (sauge, thym, basilic, menthe, etc...). On y trouve aussi des plantes ornementales (sauge, lavande, etc...) (**Lambinon *et al.*, 2004**).



Figure 13 : *Mentha pulegium* L (Menthe Pouliot).

(https://www.florealpes.com/fiche_menthapulegium.php?zoomphotod)

II.1.4. Classification

La classification de l'espèce *Mentha pulegium* L. est donnée dans le tableau suivant :

Tableau 03 : Taxonomie de la Menthe pouliot (Deyson , 1979).

Rang	Taxonomique Nomenclature
Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicotylédones
Sous classe	Gamopétales
Ordre	Lamiales ou Verbenales
Famille	Lamiaceae ou Labiées
Genre	<u>Mentha</u>
Espèce	<u><i>Mentha pulegium</i> L.</u>

II.1.5.Nomenclature

❖ Nom commun :

- En français : Herbe aux puces, Herbe de saint Laurent, Bléchon, Pouliot.
- En anglais : Pennyroyal.

❖ Nom botanique : *Mentha Pulegium* L.

❖ Nom vernaculaire :

- En arabe : Feliou
- En targui ou berbère : Afligou, Félgou, Moursal, Temarsa (Dellille , 2007 ; Sutour 2010).
- Le nom de « pouliot » vient du latin *pulegium*, qui dérive de *pulex* : la puce ; la plante ayant la propriété d'éloigner les puces (Dellille , 2007 ; Sutour ,2010).

II.1.6. Composition chimiques

Tableau 04 : Composition chimique de l'HE de *Mentha pulegium* (Guy, 2005).

Hydrocarbures terpéniques		Alcools	
β-phellandrène	trace à 2%	Néomenthol	0 à 1,5%
Limonène	0,4 à 1%	α-terpinéol	0 à 1,4%
Cétones		Esters	
Menthone	0,1à 30,8%	Acétate de néoisomenthyle	0 à 2,5%
Iso-menthone	1,9 à 25,4%	Acétate de menthyle	/
Pipéritone	0,4 à 87%	Autres composés	
Pulégone	36à 74,4%	Menthofurane	0 à 0,8%
Pipériténone	0 à 2,5%	Acétate de linalyle	/

II.1.7. Usages traditionnels

La partie aérienne florissante de pouliot est traditionnellement utilisée pour son effet antiseptique, et aussi comme antifatulent, carminatif, expectorant, diurétique, pour le traitement du rhume, sinusite, cholera, intoxications alimentaire, bronchite et tuberculose, ...etc. (Bruneton , 1999) Elle fournit une huile essentielle connue sous le nom de pennyroyal. Cette dernière est utilisée outre-Atlantique comme aromatisant (fabrication des parfums et du savon) ainsi comme répulsif d'insectes (Bruneton , 1999) . Elle a aussi une utilisation ancestrale pour aromatiser les sauces, les desserts et les boissons, elle est parfois cultivée comme plante condimentaire. (Sutour ,2010).

II.1.8. Phytochimie

L'huile essentielle, les polyphénols et les terpènes sont considérés comme les principaux composés chimiques responsables de l'activité pharmacologique des espèces appartenant au genre *Mentha*. Cependant, la plupart des études ont porté sur les huiles essentielles, alors qu'il y a beaucoup moins de rapports concernant les activités biologiques des extraits polyphénoliques de ces espèces (Stagos *et al.*, 2012).

II.2. *Cymbopogon schoenanthus*

II.2.1. Description Botanique

Cymbopogon schoenanthus est une plante herbacée vivace, formant des touffes denses à la base, le plus souvent érigées, de 60 à 80 cm de haut (Tige). Les feuilles sont linéaires, coriaces et fortement incurvées. Les inflorescences se contractent à la base, se relâchent vers les extrémités et sont protégées par une spathe caractéristique. Chaque épi contient un seul fleuron. Entre les pointes, plusieurs poils blancs caractéristiques apparaissent. Les racines ont une agréable odeur aromatique. La floraison a lieu au printemps, généralement en mars et avril (**Benhouhou, 2005**).



Figure 14 : *Cymbopogon schoenanthus* L.

(<https://www.easyayurveda.com>)

II.2.2. Origine et répartition géographique

Cymbopogon Schoenanthus est largement distribuée dans l'Afrique du Nord et l'Asie, elle est distribuée dans le Sahara Algérien (**Benhouhou, 2005**). Elle se développe dans des régions arides avec de basses précipitations (autour de 100-150 millimètres par an). Cette plante est trouvée dans des sols caillouteux-arénacés des lits non-salins de oued aussi bien comme sur les sols caillouteux-pierreux des djebels. (**Aous, 2015**) in (**Benhouhou, 2005**).

II.2.3. Classification

Tableau 05 : Taxonomie de la *Cymbopogon schoenanthus* : (Quezel et Santa ,1962).

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Classe	Liliopsidées
Ordre	Cyperales
Famille	Poaceae
Genre	<i>Cymbopogon</i>
Espèce	<i>Cymbopogon schoenanthus</i> (L.)

II.2.4. Nomenclature

Noms communs

Arabe: El Lemad اللماذ , Idjhir

Anglais : Foin,

Français : Schoenanthé, Paille de la Mecque (Molino, 2005).

II.2.5. Utilisation traditionnelle

Cymbopogon schoenanthus appartient à la famille Poacée (graminées) à un caractère sédatif, des propriétés digestives et aromatiques, avec son effet insecticide (Katiki *et al* ., 2012). Est une herbe aromatique culinaire utilisée dans plusieurs préparations de viande et de salade ou servi avec le thé en raison de son arôme agréable et localisée dans d'Afrique du Nord, *Cymbopogon schonenthus* est également utilisé dans la médecine populaire (Mahmoudi *et al* ., 2013).

II.2.6. Composition chimique

Les études sur les phytoconstituents de cette espèce révèlent la présence de tanins, des saponines, des flavonoïdes, des phénols, des anthraquinones, des alcaloïdes, désoxy sucres, et divers constituants d'huiles essentielles (Ekpenyong *et al*.,2014). L'huile a prouvé son efficacité pour traiter une grande variété de problèmes de santé (Desai *et al* ., 2014) .Les

flavonoïdes et les composés phénoliques provenant de ces plantes ont été rapportés comme piègeurs de radicaux libres puissants (**Cheel *et al.*,2005**).

Chapitre III
Les champignons
phytopathogènes étudiées

III. Les champignons phytopathogènes étudiées

Les champignons phytopathogènes sont des espèces de champignons parasites qui provoquent des maladies cryptogamiques chez les plantes.

Les champignons phytopathogènes sont responsables de maladies cryptogamiques et sont responsables de près de la moitié des maladies connues à ce jour chez les plantes cultivées (**Lepoivre, 2003**). Ces parasites sont généralement infectieux car ils envahissent l'hôte et s'y multiplient et sont contagieux, par leur transmission d'une plante infectée à une plante saine (**Bienmehid et Boukaabache, 2018**).

Plusieurs genres de champignons telluriques sont capables d'infecter les racines de plantes sauvages et cultivées et de causer des dégâts importants. Il s'agit notamment des *Aspergillus*, les *Penicillium* et les *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Pythium*, *verticillium*... L'ensemble de ces microorganismes provoquent des maladies sur diverses cultures maraîchères, céréales, plantes, (**Agrios, 2005**).

III.1. *Fusarium*

III.1.1. *Fusarium pseudograminearum*

Fusariose de l'épi est causée par *Fusarium graminearum*. Provoque le rendement pertes et réduction de la qualité du grain principalement dues à l'accumulation de mycotoxines trichothécènes telles que le déoxynivalénol (DON).

L'agent pathogène responsable de pourriture racinaire est le *Fusarium sp.* (*Fusarium pseudograminearum*) qui induit la pourriture sèche du collet, favorisé par les sols humides, il envahit le collet, les racines ou les gaines foliaires. Cet agent peut provoquer la pourriture des semences et la brûlure des semis, donnant lieu à la pourriture du collet, de la tige et des racines (**Boddu et al .,2006**).

III.1.2. *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum est un agent pathogène de nombreuses plantes cultivées, y compris la patate douce, le chou, le concombre, le melon, les palmiers dattiers, l'ananas, la tomate, les pois et le coton. Il infecte également les céréales, y compris le maïs, le riz et et les noix comme les arachides, les pacanes, les noisettes et les noix (**Pitt et Hocking, 1997; Leslie et Summerell, 2006**). *Fusarium oxysporum* produit la moniliformine. l'estvéricine et les

fumonisines de type B de type C (Moretti *et al.*, 2002; Proctor *et al.*, 2004; Pitt et Hocking, 2009).

III.1.2.1. Classification

La classification des *Fusarium* a été basée sur leurs caractères morphologiques, le principal caractère étant la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées (Elhouiti, 2018). Compte tenu de leur fréquence dans les différents substrats, notamment les céréales, de leur potentiel toxigène et de leur pouvoir pathogène, les principales espèces de *Fusarium* sont : *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. oxysporum* et *F. verticilloides* (Tabuc, 2007).

Tableau 06 : Taxonomie de *Fusarium oxysporum* (O'Donnell , 2015).

Rang	Taxonomique Nomenclature
Phylum	Ascomycota
Classe	Sordariomycetes
Ordre	Hypocreales
Famille	Nectriaceae
Genre	<i>Fusarium</i>
Espèce	<i>Fusarium oxysporum</i>

III.1.2.2. Dégâts

Les dégâts sont fortement liés au climat, les pertes de rendement peuvent atteindre jusqu'à 80%, sont directement liées à la proportion de grains Fusariés (Saur et benacef, 1993). Selon Benoît (2005) :

-A la levée

Les pertes à la levée sont importantes avec des semences d'épis fusariés. Les *Fusarium* (*F. roseum* mais aussi *Microdochium nivale*) sont présents dans tout le grain (téguments, réserves et embryon).

-Sur grains

Les grains fusariés sont blancs, roses ou en partie noirâtres, d'aspect duveteux, avec une amande souvent dégradée. Les pertes de rendement sont directement liées à la proportion de grains fusariés.

-Sur l'épi

Les spores roses de *F. roseum* sont observables sur les épis. Des taches sur les glumes apparaissent également. Il peut s'en suivre un dessèchement de l'épi.

III.1.2.3. Moyens de luttes

Le contrôle de la fusariose vasculaire est difficile en raison de la nature du pathogène transmis par le sol et sa capacité de persister de longues périodes, même en l'absence de la plante hôte (**Frederix et Den Brader, 1989**). En outre, les chlamydospores de FOC peuvent survivre 6 ans dans le sol.

Les pratiques culturales à savoir la destruction des débris de récolte des plantes fusariées, la jachère de longue durée, la rotation culturale avec des cultures non-hôtes, peuvent agir sur la densité de l'inoculum présent dans le sol (**Booth, 1971; Edel et al., 1995**). Cette pratique d'alternance de culture apporte des effets bénéfiques compte tenu de la préservation nécessaire des ressources du sol. De plus, elle induit une variation naturelle de la flore favorable à la résistance aux pathogènes. Il a été signalé l'importance de certaines méthodes prophylactiques telle que la solarisation des sols et le choix conforme d'une conduite culturale défavorisant l'installation et la croissance de l'agent pathogène. Les fusarioses vasculaires sévissent moins en conditions d'irrigation réduite ainsi que dans des sols à pH élevé, riches en calcium et potassium, pauvres en oligoéléments, magnésium et dont l'azote est surtout sous forme nitrique plutôt qu'ammoniacale (**Woltz et Jones, 1981**).

Toutes ces conditions ne sont pas suffisantes pour protéger totalement la culture contre les infections et en outre, la plupart d'entre elles sont défavorables à une bonne productivité (**Bulit et al., 1967**). De plus, il est connu que des formes spéciales comme *melonis*, *ciceris* et *lentis* peuvent coloniser d'autres plantes sans provoquer de symptômes apparents, ce qui rend impossible l'éradication de la maladie par la pratique des cultures en rotation (**Belabid, 2003**). De nombreux fongicides sont disponibles pour lutter contre les champignons pathogènes. **Singh et Jha (2003)** ont évalué l'efficacité *in vitro* de sept fongicides, à savoir thiram, Bavistin (carbendazim), Blitox (cuivre oxychlorure), Captaf (captan), Indofil le M 45 (mancozeb+thiophanate-méthyl) Ridomil MZ (mancozeb+metalaxyl) et Kitazin

(iprobenfos), vis – à – vis du flétrissement vasculaire du pois chiche (*in vitro* chacun à la concentration de 1 % et *in vivo*). Des travaux similaires ont été réalisés par **Elfatih et al.**

(2002) afin d'évaluer l'effet des fongicides Tecto-TM et Quinolate sur l'agent du flétrissement vasculaire du pois chiche en plein champ. L'augmentation de l'utilisation des fongicides provoque plusieurs effets négatifs comme le développement de la résistance des agents pathogènes. Ces fongicides ont aussi un effet néfaste sur l'environnement **(Gerhardson, 2002)**.

Comme pour toutes les maladies causées par des microorganismes telluriques, les fusarioses ne peuvent pas être éradiquées par des produits chimiques alors que la seule et l'unique mesure pour contrôler les maladies aux champs est l'utilisation de variétés des plantes résistantes. En conséquence, les stratégies du contrôle biologique des fusarioses ont acquis un intérêt particulier. On sait depuis longtemps que l'incidence de la fusariose peut varier sur des sols différents infestés de *Fusarium*. **(Alabouvette et al., 2006)**.

III.2. *Verticillium dahliae*

Le genre *Verticillium* a une longue histoire taxonomique. Il a été évoqué pour la première fois en 1816 par Von Ness. Il désignait un groupe de Deutéromycètes caractérisés par un conidiophore verticillé d'où le nom *Verticillium*, à l'époque cette définition incluait plus de 50 espèces dont les parasites d'insectes. De nématodes ou d'autres champignons et un groupe d'espèces particulières qui provoquent des maladies de flétrissement vasculaire chez les dicotylédones. Ces derniers se distinguent des autres par le fait qu'elles forment des structures de dormance. dans ce groupe on trouve *Verticillium albo-atrum*, *Verticillium dahliae*, *Verticillium tricopum* et *Verticillium nigriscens*. L'agent causal le plus important économique et le plus étudié est *verticillium dahliae* **(Toueni, 2014)**.

III.2.1. Classification

Tableau 07 : Taxonomie de *Verticillium dahliae* Selon (Botton et al., 1990).

Rang	Taxonomique Nomenclature
Règne	Mycota
Division	Ascomycota
Subdivision	Sordaryomycètes
Classe	Hypocreomycetidae
Ordre	Incertaesedis
Famille	Plectophaerellaceae
Genre	<u>Verticillium</u>
Espèce	<u>Verticillium Dahliae</u>

III.2.3.Dégâts

Le *Verticillium dahliae* est un agent pathogène tellurique très répandu et peut causer des pertes importantes dans une large gamme d'herbacés et lignés (Hiemstra et Harris , 1998 ; Pegg et Brady , 2002).

Il affecte de vastes zones oléicoles, surtout les nouvelles plantations qui sont réalisées dans les pays où la culture est en expansion ou bien dans les régions où des plans de restructuration de l'olivier traditionnel sont en cours. En général, elle affecte les oliveraies irriguées plus ou moins intensivement et localisées dans des zones irriguées complantées d'espèces sensibles à la maladie. Les dégâts se manifestent par un dessèchement des branches secondaires, des branches principales et parfois même de l'arbre complet (Bellahcene, 2004).

En Grèce, les pertes occasionnées par la maladie ont été évaluées entre 2 à 3%. En Andalousie, sur 122 exploitations inspectées avec un total de 350.000 arbres, 38.5% d'arbres étaient affectés avec une incidence moyenne de la maladie qui oscille entre 10 et 90% des arbres affectés. En Algérie, les dégâts occasionnés avoisinent les 12% (Bellahcene, 2004).

III.2.4. Moyens de lutttes

III.2.4.1 Lutte chimique

En pratique, la lutte chimique constitue, de loin le type de méthode le plus utilisé pour la gestion de la verticilliose (Yangui *et al.*, 2010 ; Alfano *et al.*, 2011). Elle se fait par stérilisation du sol à l'aide de fumigants chimiques (le bromure méthylique) (Fravel et Larkin, 2000; Martin-Lapierre, 2011) ou l'utilisation de fongicides systémiques (méthylthiophanate, thiabendazole, bénomyl, et carbendazime) (Henni, 1982; Boukendel, 2001; Kumar *et al.*, 2012). Ce recours aux produits chimiques, toujours valables dans certaines situations, engendrent cependant des coûts élevés et des impacts sur l'environnement (Nannipieri *et al.*, 1990). Actuellement aucun traitement curatif n'a prouvé son efficacité (Arslan et Dervis, 2010).

III.2.4.2. Lutte biologique

Dans un contexte d'oléiculture durable, la lutte biologique peut offrir de nombreuses méthodes de lutte alternative au traitement chimique (Uppal *et al.*, 2008). Ce moyen de lutte met en oeuvre différents organismes vivants, appelés auxiliaires, ou leurs produits, pour prévenir ou réduire les dégâts. Il s'agit d'utiliser surtout les microorganismes tels que *Pseudomonas sp.* et *Bacillus sp.* (Mercado-Blanco *et al.*, 2004 ; Bounoua, 2008 ; Lang *et al.*, 2012).

Des études ont indiqué que certaines bactéries et extraits des plantes peuvent servir d'excellents agents de lutte biologique contre certains pathogènes telluriques (Pegg et Brady, 2002 ; Mercado-Blanco *et al.*, 2004; Arfaoui *et al.*, 2007). Comme pour les produits de lutte chimique, on peut distinguer chez les microorganismes des effets directs sur l'agent pathogène, des effets sur la pathogénèse et des effets indirects par l'intermédiaire de la plante (Nicot, 2002). Ce moyen de lutte à malheureusement dévoilé un succès limité contre la verticilliose (Sanei *et al.*, 2010).

III.2.4.3. Lutte intégrée

La prise de conscience des limites des méthodes chimiques, biologiques et génétiques contre cette trachéomycose a incité les chercheurs européens à s'orienter vers le développement de la lutte intégrée. Cette lutte consiste dans l'emploi combiné et raisonné de toutes les méthodes (culturale, physique, chimique, biologique et génétique), pour réduire l'inoculum du champignon de façon efficace et maintenir les dégâts à un seuil économiquement tolérables,

tout en respectant l'environnement (**Lopez- Escudero et Mercado-Blanco, 2010 ; Bubici et Cirulli, 2011**).

III.3. *Alternaria spp*

Les *Alternaria* sont des champignons fréquents dans notre environnement. Ils appartiennent aux moisissures atmosphériques. Ils peuvent être isolés de végétaux très divers. *Alternaria* comprend près de 275 espèces (**Simmons, 2007**) avec des modes de vie saprophytes et phytopathogènes qui peuvent affecter les cultures sur champ ou les produits végétaux pendant la récolte et post-récolte (**Logrieco et al., 2009**). Autant que parasites de faiblesse, les *Alternaria* sont capables de mener une existence saprophytique pendant des périodes plus ou moins longues. Certains, tels qu'*A. chartarum*, *A. consortiale*, *A. fève*, *A. tenuis*, *A. néflier* etc., ont un habitat le plus souvent saprophytique et se rencontrent couramment sur des débris organiques ou les végétaux morts. Quelques espèces, comme *A. solani*, *A. dauci* et ses formes, *A. linicola*, *A. zinniae*, etc., vivent au contraire à l'état de parasites sur des plantes encore apparemment vigoureuses (**Messiaen et al., 1991**). Ce sont des champignons mésophiles, leurs activités prédominantes disparaissent lorsque la température s'élève (**Botton et al., 1990**).

III.3.1. *Alternaria alternata*

Alternaria alternata, est l'espèce la plus commune du genre *Alternaria*, c'est un champignon dont les spores sont présentes dans le monde entier dans deux environnements principaux. Tout au long de l'année, les spores peuvent être trouvées dans les constituants organiques du sol. Du printemps à l'automne, ils s'envolent et sont donc encore plus omniprésents. Bien que généralement considéré comme un contaminant saprophyte, *Alternaria* est maintenant considéré comme responsable d'un certain nombre de troubles. De plus, *Alternaria* est un allergène important, et le rôle des allergies à *Alternaria* dans le développement et l'exacerbation de l'asthme est de plus en plus reconnue en médecine. (**Kustrzeba-Wójcicka et al., 2014**).

III.3.1.1 Classification

Tableau 08 : Taxonomique *Alternaria alternata* selon (Kustrzeba-Wójcicka *et al.*, 2014).

Rang	Taxonomique Nomenclature
Règne	Champignons
Division	Ascomycota
Classe	Euascomycetes
Ordre	Pleosporales
Famille	Pleosporaceae
Genre	<i>Alternaria</i>
Espèce	<i>Alternaria alternata</i>

III.3.1.2. Dégâts

A la face supérieure des feuilles, on observe des taches dispersées, très peu délimitées brunes à noires de type nécrotique avec des contours anguleux et de diamètre variables. (Abd el Monaim Hassen, 1999).

Alternaria est un pathogène d'origine végétale et peut infecter plus de 4 000 espèces végétales, causant des dommages importants aux céréales, fruits et légumes ; ce qui le tient responsable de 20 % des pertes de rendement agricole (Ward ,2019).

Les espèces d'*Alternaria* sont associées à des maladies des plantes provoquant la détérioration des produits agricoles avec des pertes économiques conséquentes (Achetbi ,2021).

III.3.1.3. Moyens de lutttes

III.3.1.3. 1. Lutte chimique

Bien qu'une telle gestion puisse réduire la sévérité de la maladie, la lutte contre la tache brune dépend encore largement des applications de fongicides (Vicent *et al.*, 2007) et, dans certains cas, en fonction de la sensibilité de l'hôte et des conditions météorologiques, les producteurs peuvent appliquer de 2 à 15 pulvérisations de fongicides au cours de la saison de croissance (Vega et Dewdney, 2015).

-Eviter les stress nutritionnels

-Application de fongicides (mancozèbe, chlorothalonil ou fluazinam) (Abd el Monaim Hassen, 1999).

III.3.1.3. 2. Lutte biologique

L'essor de la lutte biologique a longtemps été freiné par la position dominante de la lutte chimique dans les systèmes de productions intensifs. Elle vise à contrôler les agents pathogènes aux moyens d'agents de lutte biologique (Biological contrôle agent : BCA) ainsi que les produits qu'ils en dérivent (**Lepoivre, 2003**).

Plusieurs antagonistes potentiels sont signalés dans la littérature : des bactéries (*Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus spp.*, etc.) comme des champignons (*Trichodermapolysporum*, *Chaetomiumglobosum...*) ; leurs performances ne semblent toutefois pas importantes en situation d'épidémie naturelle (**Blancard et al., 2012**).

Quelques études sur *Trichoderma spp.* connu depuis longtemps (**Bisby, 1939**), est utilisé comme agent de lutte contre les phytopathogènes du sol (**Baker et Cook, 1974**) ce champignon a une adaptation écologique très large, sa capacité à croître sur des substrats très peu coûteux, en font un candidat potentiellement intéressant pour de nombreuses applications en lutte biologique (**Amsellem et al., 1999**). Les propriétés antagonistes des *Trichoderma spp.* s'expliquent par la compétition pour les éléments nutritifs, l'antibiose ainsi que le parasitisme (**Yedidia et al., 2000**). *Trichoderma spp.* Est commercialisé pour lutter contre les agents de fontes de semis, il occupe 50% des BCA fongique mis sur le marché (**Verma et al., 2007**).

Un autre exemple de travaux menés sur *Bacillus spp.* autant qu'agents de lutte contre les pathogènes des produits récoltés et stockés (**Sharma et al., 2009**).

Depuis, beaucoup d'antagonistes ont été identifiés et utilisés pour le contrôle de l'alternariose sur différents fruits et légumes. L'inoculation artificielle par des agents antagonistes est plus efficace pour le contrôle de l'alternariose sur fruits et légumes que d'autres moyens.

Des produits à base de *Bacillus* sont couramment utilisés en agriculture comme biopesticides, fongicides et stimulateurs de la croissance chez les plantes. Certaines espèces de *Bacillus* ont aussi un effet bactéricide et nématocide (**Pérez-Gacia et al., 2011**).

Le contrôle biologique des phytopathogènes par *Bacillus* est principalement due au rôle des lipopeptides Fengycine et iturine, ces derniers ont été largement caractérisé comme composés antifongiques contre plusieurs champignons et oomycètes phytopathogènes (**Romeo et al.,**

2007 ; Ongena et Jacques, 2008 ; Arrebola *et al.*, 2010). L'iturine peut également avoir un potentiel antibactérien supplémentaire.

Les lipopeptides surfactines sont essentiels pour la motilité. Les surfactines agissent comme des molécules de signalisation pour la formation de biofilm qui semblent être nécessaire pour la colonisation de la surface des racines et des feuilles par les bacilles associés aux plantes (**Jourdan *et al.*, 2009**).

Chapitre IV
Matériels et méthodes

IV.1. Objectif de l'étude

L'objectif de notre travail est de déterminer l'effet antifongique de deux huiles essentielles *Cymbopogon schoenanthus* et *Mentha pulegium* sur cinq souches fongiques notamment (*Alternaria alternata* sur nefflier, *Alternaria sp* sur fève, *Fusarium oxysporum* sur blé, *Fusarium pseudograminearum* sur blé, *Verticillium dahliae*).

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de phytopathologie du Département d'Agronomie de l'université M'hamed Bougara Boumerdes sous des Conditions contrôlées de température et d'humidité.

IV.2. Matériel biologique

IV.2.1. Matériel végétal

Nous avons utilisé deux huiles essentielles extraites de deux plantes *Cymbopogon schoenanthus* L. provenant de Tamanrasset au sud du Sahara Algérien et de *Mentha pulegium* provenant de la région de Médéa.

Les critères de choix reposent sur la disponibilité des plantes sur le territoire national, sur leurs usages en pharmacopée traditionnelle locale, et sur le manque de travaux de recherche sur leurs propriétés biologiques, en particulier et le pouvoir antifongique de leurs huiles essentielles d'autre part.

Ces huiles essentielles ont été fournies par notre encadrante Mme AOUS Wahiba, enseignante au Département d'Agronomie de l'UMBB.



Figure 15: Les huiles essentielles de *C. schoenanthus* et *M. pulegium* (Original).

IV.2.2 Matériel fongique :

Les tests antifongiques sont réalisés sur des souches fongiques notamment (*Alternaria alternata* sur néflier, *Alternaria sp* sur fève, *Fusarium oxysporum* sur blé, et *Fusarium pseudograminearum* sur blé, *Verticillium dahliae*) choisies pour leur implication fréquente dans la contamination des cultures et des pertes de rendement des récoltes ainsi que pour leurs pathogénicités.

Toutes les souches ont été entretenues par repiquage sur milieu Agar dextrose de pomme de terre (PDA) favorable à leur croissance pour assurer leur purification.

IV.3. Préparation de milieu de culture utilisé

Le milieu de culture que nous avons utilisée dans la partie expérimentale est la gélose dextrosée à la pomme de terre (PDA) (Potato Dextrose Agar), favorable pour la croissance des champignons phyto- pathogènes.

Le milieu PDA a été préparé selon le protocole de (**Rappily, 1968**) dont la composition est de 200 g de pomme de terre, 20 g de glucose, 20 g d'Agar Agar, et 1000 ml d'eau distillé.

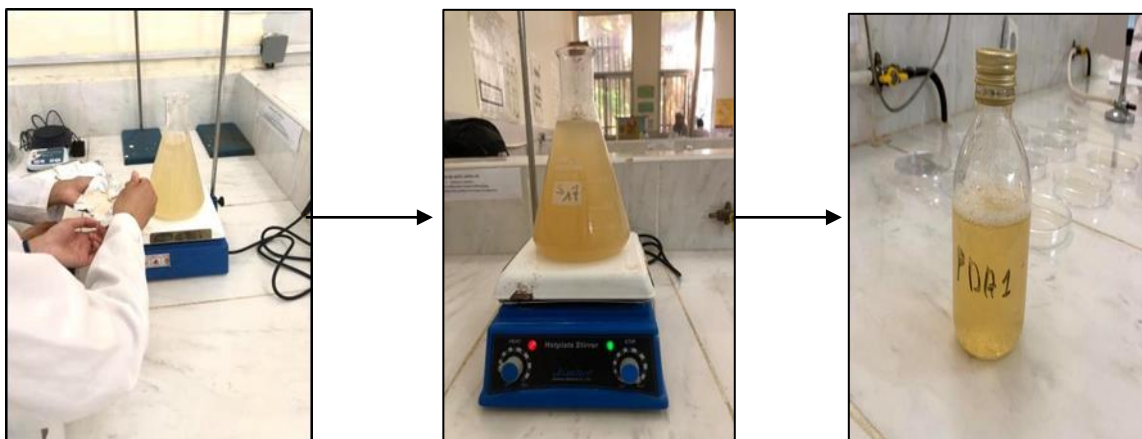


Figure 16 : Préparation du milieu PDA (Original)

IV.4. Méthode d'isolement et de purification champignon

Avant de commencer les manipulations, Il faut travailler en conditions d'asepsie. Ceci est réalisé en créant une zone stérile par la flamme du bec Bunsen, sur une paillasse soigneusement nettoyée avec l'eau de javel.

IV.4.1. Isolement

L'isolement est réalisé à partir des échantillons présentant des symptômes de maladies fongiques notamment la fusariose, l'alternariose et la verticilose en coupant la partie contaminée à l'aide d'un scalpel stérile en fragments, chaque fragment est immergé dans l'éthanol 98%, après dans un bain d'eau de javel, et ce durant 30 secondes pour chacun. Ensuite, les fragments sont rincés plusieurs fois à l'eau distillée stérile. Après séchage, les fragments sont placés aseptiquement dans les boîtes de pétri contenant le milieu de PDA. Enfin, les boîtes sont incubées à 28° pendant 5 jours.

IV.4.2. Repiquage du champignon

Après un bon développement des colonies, on effectue des repiquages de chaque colonie pour purifier les champignons et minimiser les risques de contamination, jusqu'à arriver à isoler sur chaque boîte de Pétri une seule colonie d'un champignon donné.

Le repiquage se fait par prélèvement d'un fragment de colonie à l'aide d'une anse stérilisée tout en évitant son contact avec les autres colonies avoisinantes de la même boîte. Ce fragment est déposé au centre d'une nouvelle boîte sur laquelle on indique la date de repiquage et les coordonnées de la boîte de prélèvement. Cette méthode est répétée jusqu'à l'obtention des colonies pures. Le repiquage se fait aseptiquement près du bec Bunsen. . Figure dans l'annexe.

IV.5. Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles

IV.5.1. Préparation des suspensions fongiques

Les souches fongiques testées sont premièrement inoculées séparément sur milieux PDA et incubées pendant 15 jours jusqu'à ce que la sporulation soit complète, ensuite, une suspension de spores de chaque champignon est préparée :

Après raclage à l'aide d'une pipete pasteur, la suspension fongique de spores en question est récupérée dans un tube à essai contenant de 10 ml d'eau distillée stérile et agitant pour obtenir une suspension fongique homogène dont la concentration est ajustée à 10^5 - 10^6 germes/ml à l'aide du spectrophotomètre UV visible.

IV.5.2. Etude qualitative de l'effet antifongique des huiles essentielles étudiées par la méthode de diffusion sur milieu gélosé (Aromatogramme)

L'activité antimicrobienne a pour objectif de déterminer la sensibilité des champignons vis-à-vis les huiles essentielles *Cymbopogon schoenanthus* et *Mentha pulegium*. Pour évaluer l'activité antifongique des huiles essentielles étudiées, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant des disques en papier buvard stérile imprégnés des huiles essentielles à tester appelés aromatogrammes.

Le principe de la méthode a été tiré à partir du titrage des antibiotiques (**Pharmacopée Européenne, 2002**).

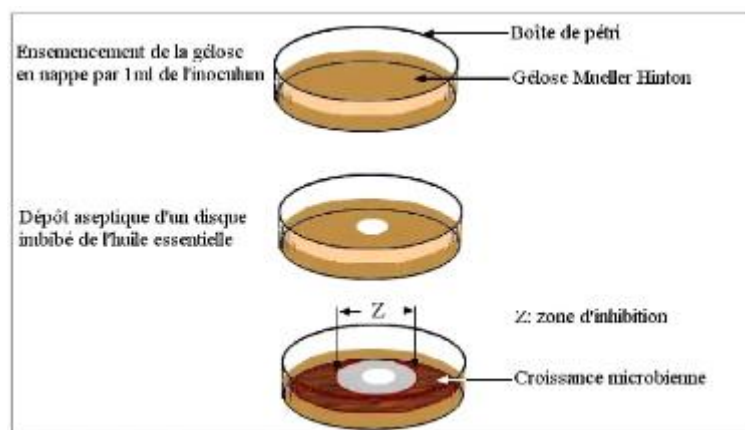


Figure 17 : Illustration de la méthode d'aromatogramme (Zaiki, 1988).

IV.5.2.1. Principe d'aromatogramme

Des disques de papier buvard stériles de 6 mm, imprégnés d'une quantité de 20 μ l d'huile essentielle à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche étudiée. Dès l'application des disques, les huiles essentielles diffusent de manière uniforme dans la gélose ce qui va permettre l'inhibition de la croissance des germes, tout autour des disques. Le DMSO a été utilisé comme contrôle négatif.

Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et mises à l'étuve à la température de 28°C pendant 7 jours.

L'expérience est répétée trois fois pour chaque espèce fongique afin de minimiser l'erreur expérimentale et garantir un bon déroulement de la méthode.

IV.5.2.2. Détermination des diamètres de zones d'inhibition de la croissance.

Nous avons procédé à la mesure du diamètre des zones d'inhibition autour de chaque disque. Après incubation, la sensibilité des germes aux huiles essentielle se traduit par la présence d'une zone claire autour des disques (zone d'inhibition en mm) à l'aide d'un pied à coulisse.

IV.5.2.3. Analyses statistiques

L'analyse statistique retenue est l'analyse de la variance à un et deux critères de classification selon les tests. Lorsque cette analyse révélait des différences significatives, elle était complétée par le test de Newman et Keuls (logiciel Statitcf, version 5)

Chapitre V
Résultats et discussion

V.1. Evaluation de l'activité antifongique

Pour l'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* et *Mentha pulegium* des différentes souches testées, la technique utilisée est celle de l'aromatogramme. C'est une méthode de mesure in vitro du pouvoir antifongique des huiles essentielles. Le diamètre du halo d'inhibition entourant les disques est mesuré. Chaque halo, une zone claire, nommée aussi zone d'inhibition de la croissance fongique, montre la destruction des germes et donne une indication précise sur l'activité antifongique des huiles utilisées.

Nos résultats indiquent que les deux huiles essentielles de *Mentha pulegium* et, *Cymbopogon schoenanthus* ont une capacité inhibitrice sur la croissance mycélienne des souches testées notamment (*Alternaria alternata* sur nefflier, *Alternaria sp* sur fève, *Fusarium oxysporum* sur blé, *Fusarium pseudograminearum* sur blé, *Verticillium dahliae*).

Nos huiles ont pu effacer une surface importante de PDA après certain temps en inhibant la croissance des champignons (Figure 18 , 19, 21, 22).

V.1.1. Action de l'huile essentielle de *Mentha pulegium*

Les résultats de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* montrent une inhibition de la croissance mycélienne sur toutes les souches testées exceptée la souche *Fusarium pseudograminearum* qui s'est montrée très résistante.

Les diamètres des zones d'inhibition varient en fonction de la sensibilité des souches utilisées,

Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau 09. Les moyennes des diamètres des zones d'inhibition de chaque souche fongique en fonction des huiles essentielles testées sont représentées par le tableau 09 et la figure 18 et 19.



Figure 18 : Diamètres des zones d'inhibition *Alternaria alternata*

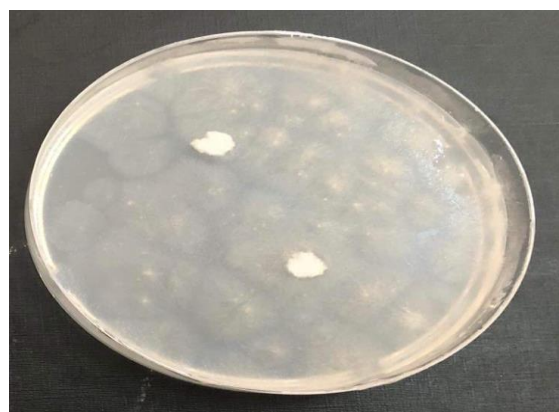


Figure 19 : Diamètres des zones d'inhibition *Fusarium pseudograminearum*

Alternaria alternata sur neflier est fortement inhibé par l'huile essentielle avec un diamètre 64.03 mm, et le plus faible diamètre de zones d'inhibition a été enregistré sur *Fusarium pseudograminearum* avec un diamètre de 15 mm.

Les extraits végétaux des plantes médicinales sont dotés d'une activité antimicrobienne qui dépend principalement de leur composition chimique et aussi de la nature des solvants d'extraction. Les extraits des plantes médicinales ont un spectre d'action très large puisqu'ils inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des champignons (Dohou *et al*, 2004).

Tableau 09 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance mycélienne obtenus par les huiles essentielles testées du *Mentha pulegium*.

Les souches testées	Répétition	Témoin (mm)	Zone d'inhibition (mm)	Moyenne des zones d'inhibition (mm)
<i>Alternaria Alternata</i> <i>Neflier</i>	R1	0	56.6	64.03
	R2		73.5	
	R3		62	
<i>Alternaria spp fève</i>	R1	0	13	30.33
	R2		48	
	R3		30	
<i>Fusarium oxysporum</i>	R1	0	19.5	16.5
	R2		14	
	R3		16	
<i>Verticillium dahliae</i>	R1	0	33	32
	R2		31	
	R3		32	
<i>Fusarium pseudograminearum</i>	R1	.0	14	15
	R2		16	
	R3		15	

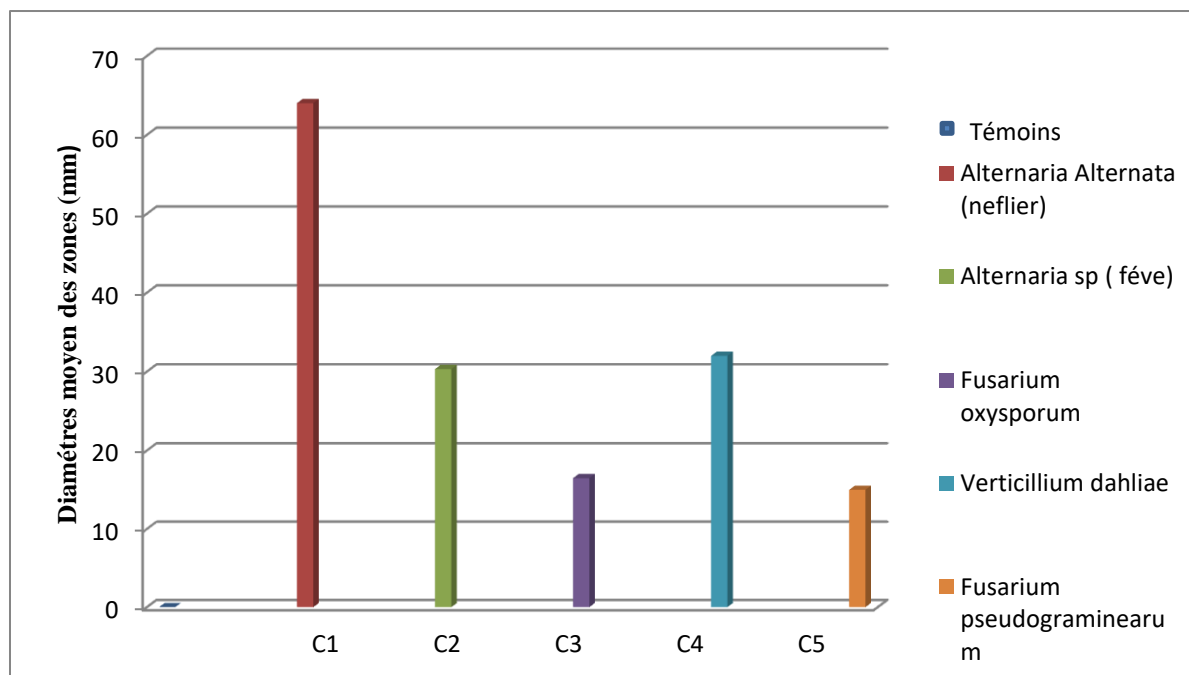


Figure 20 : Diamètres de zones d'inhibition de la croissance mycélienne sur les souches testées par la *Mentha pulegium*.

Tableau 10 : Analyse de la variance des diamètres de zones (mm).

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	7163,9444	1432,7889	22,0098	< 0.0001
Erreur	12	781,1733	65,0978		
Total corrigé	17	7945,1178			

L'analyse statistique a montré une différence très hautement significative ($P < 0,001$).

Tableau 11 : Test de Newman-Keuls (SNK) des diamètres des zones d'inhibition (mm).

Modalité	Moyennes estimées	Erreur standard	Borne	Borne	Groupes
			inférieure (95%)	supérieure (95%)	
<i>Alternaria alternata</i>					
neflier	64,0333	4,6582	53,8839	74,1828	A
<i>Verticillium dahliae</i>	32,0000	4,6582	21,8506	42,1494	B
<i>Alternaria spp</i> fève	30,3333	4,6582	20,1839	40,4828	B
<i>Fusarium</i>					
<i>pseudograminearum</i>	16,5000	4,6582	6,3506	26,6494	B
<i>Fusarium oxysporum</i>	15,0000	4,6582	4,8506	25,1494	B
Témoin	0,0000	4,6582	-10,1494	10,1494	C

Par ailleurs le test de Newman-Keuls a réparti les diamètres des zones d'inhibition en trois groupes distincts dont les moyennes des diamètres sont significativement différentes.

Nos résultats corroborent d'autres travaux sur le pouvoir antifongique des huiles essentielles de la menthe pouliot.

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et d'*E. camaldulensis* a été étudié vis-à-vis de deux champignons causant la pourriture des pommes, *A.alternata* et *Penicillium. expansum*. L'huile essentielle de *M. pulegium* est plus active que celle d'*E. camaldulensis*, elle a provoqué une inhibition de la croissance de ces souches à partir de 30µl. (El Arch *et al.*, 2003) ; (Satrani ,2010).

Selon Hmiri, *et al.*, (2011) ont découvert que l'huile essentielle de *Mentha pulegium* inhibait la croissance d'*Alternaria alternata* et de *Penicillium expansum* à un volume de 10µl.

En effet Ouraini *et al.*, (2005) ont obtenu une inhibition totale de la croissance des dermatophytes à partir d'une concentration de 2 µg/ml de l'huile essentielle de *M. pulegium*.

Par ailleurs, *Botrytis cinerea*, un autre champignon responsable de la pourriture des pommes, ainsi que d'autres espèces fongiques (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum* et *Trichoderma sp.*) sont tous sensibles à l'activité antifongique de l'huile essentielle de la menthe pouliot (Chebli *et al.*, 2003 ; Hajlaoui *et al.*,2009).

Selon Mahboubi, M. & Haghi, G. (2008) l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* est significative contre les micro-organismes, en particulier les bactéries à Gram positif, avec des zones d'inhibition et des valeurs de concentration inhibitrices minimales comprises entre 8 et 21 mm et 0,25 à 4 µl/ml, respectivement, tandis que les bactéries à Gram négatif étaient les moins sensibles, en particulier *Escherichia coli*.

V.1.2. Action de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus*

Les résultats de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* montrent une inhibition de la croissance mycélienne sur toutes les souches testées exceptée la souche *Verticillium dahliae* qui s'est montrée très résistante.

Les diamètres des zones d'inhibition varient en fonction de la sensibilité des souches utilisées,

Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau 12 Les moyennes des diamètres des zones d'inhibition de chaque souche fongique en fonction des huiles essentielles testées sont représentées par le tableau 12 et la figure 21 et 22 .

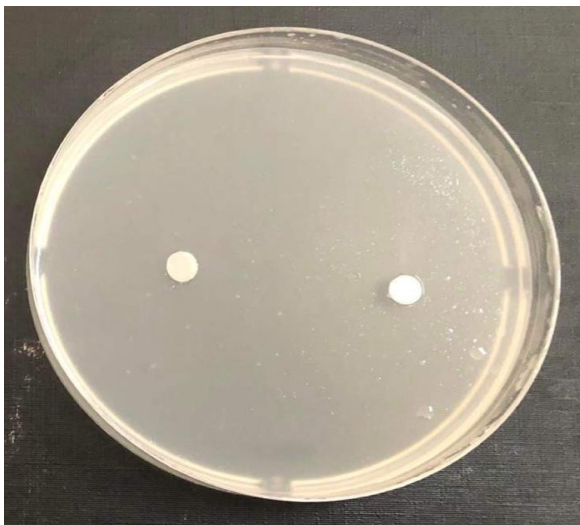


Figure 21 : Diamètres des zones d'inhibition *Fusarium oxysporum*.

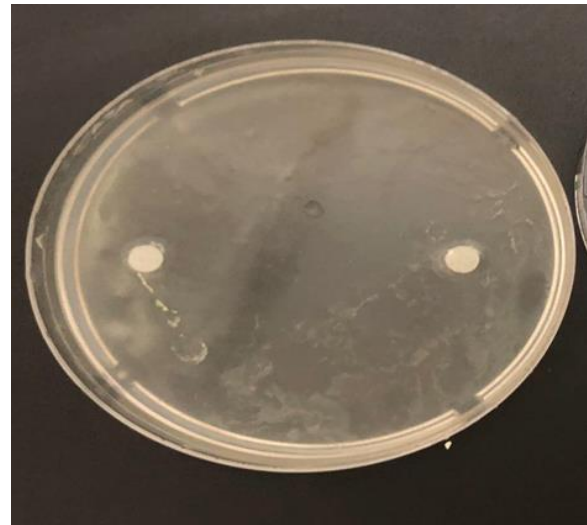


Figure 22 : Diamètres des zones d'inhibition *Verticillium dahliae*.

Tableau 12 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance mycélienne obtenus par les huiles essentielles testées du *Cymbopogon schoenanthus*.

Les souches testées	Répétition	Témoin (mm)	Zone d'inhibition (mm)	Moyenne des zones d'inhibition (mm)
<i>Alternaria Alternata</i> <i>Neflier</i>	R1	0	74.5	74.5
	R2		74.5	
	R3		74.5	
<i>Alternaria sp fève</i>	R1	0	67.5	67.5
	R2		67.5	
	R3		67.5	
<i>Fusarium oxysporum</i>	R1	0	80	80
	R2		80	
	R3		80	
<i>Verticillium dahliae</i>	R1	0	29	25.83
	R2		22.5	
	R3		26	
<i>Fusarium pseudograminearum</i>	R1	0	71.5	50.83
	R2		26	
	R3		55	

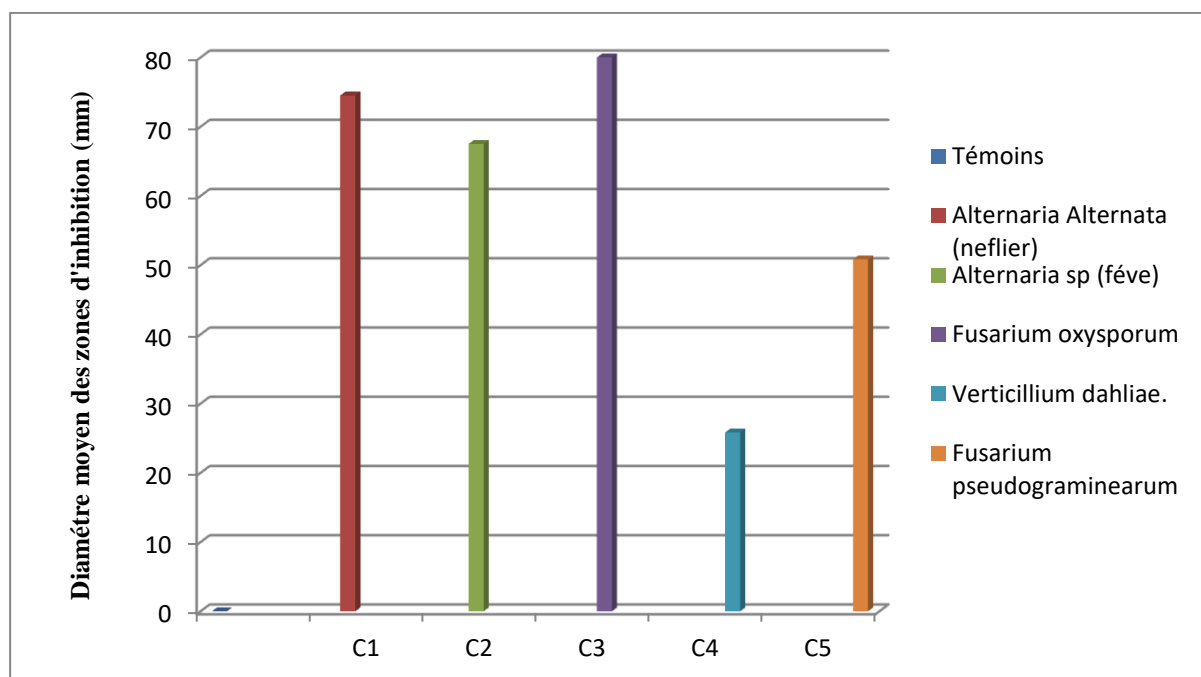


Figure 23 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance mycélienne sur les souches testées par la *Cymbopogon schoenanthus*.

D'après les résultats obtenus, La souche possède un potentiel de résistance très élevé contre l'action antifongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* avec un diamètre d'inhibition de 80 mm sur *Fusarium oxysporum* (Figure 21).

Le plus faible diamètre de zones d'inhibition qui a été enregistré au niveau de la même concentration avec un diamètre de 25.83 mm sur *Verticillium dahliae* (Figure 22).

Les huiles essentielles testées sur les différents champignons ont montré une action légèrement variables. L'HE de *Cymbopogon schoenanthus*, semblait être préférentiellement plus active sur la plupart des champignons tout en exerçant une activité inhibitrice plus grande contre *Fusarium oxysporum*.

Tableau 13 : Analyse de la variance des diamètres de zones (mm)

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	14672,7778	2934,5556	32,5359	< 0.0001
Erreur	12	1082,3333	90,1944		
Total corrigé	17	15755,1111			

L'analyse statistique a montré une différence très hautement significative ($P < 0,001$).

Tableau 14 : Test de Newman-Keuls (SNK) .

Modalité	Moyennes estimées	Erreur standard	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)	Groupes
Fusarium pseudograminearum	80,0000	5,4831	68,0533	91,9467	A
Alternaria alternata néflier	74,5000	5,4831	62,5533	86,4467	A
Alternaria spp fève	67,5000	5,4831	55,5533	79,4467	A B
Fusarium oxysporum	50,8333	5,4831	38,8866	62,7801	B
Verticillium dahliae	25,8333	5,4831	13,8866	37,7801	C
Témoin	0,0000	5,4831	-11,9467	11,9467	D

Par ailleurs le test de Newman-Keuls a répartis les diamètres des zones d'inhibition en trois groupes distincts dont les moyennes des diamètres sont significativement différentes.

L'huile essentielle de *C. schoneanthus* a fait l'objet de plusieurs études. En effet, nos résultats sont en accord avec ceux de Gbogbo et al. (2006), qui ont également évalué l'activité antifongique de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* vis-à-vis de cinq espèces fongiques (*Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Bipolaris maydis*, *Fusarium oxysporum*, et *Nigrospora oryzae*). Les résultats obtenus montrent qu'à la concentration de 1,14 $\mu\text{L/mL}$, l'inhibition de la croissance des souches a atteint les 100%.

Aux plus faibles concentrations (0,071 $\mu\text{l/ml}$, 0,142 $\mu\text{l/ml}$ et 0,285 $\mu\text{l/ml}$) inhibition totale de la croissance des isolats n'a pas été observée. Mis à part *Alternaria alternata* et *Nigrospora oryzae*, à partir 0,285 $\mu\text{l/ml}$, on obtient une inhibition significative à $p < 0,05$ du

développement des thalles. Cette activité antifongique s'explique puisqu'il s'agit de deux chimiotypes, linalol qui a un effet modéré sur les micromycètes et l'eugénol qui présente la plus forte activité (**Edris et Farrag, 2003**).

Selon Koba, (2003) L'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles d'*O. basilicum* sur les dermatophytes et certaines bactéries montre que celles-ci sont inefficaces sur la plupart des germes testés. Cette faible activité inhibitrice serait due à la différence des chimiotypes testés.

Awuah et Ellis , (2001) ont montré l'efficacité de la poudre de feuilles d'*Ocimum basilicum* dans la protection des stocks d'arachide contre *Aspergillus parasiticus* et les contaminants des stocks.

Selon **Paranagama et al., (2003)**, riz traité avec l'huile essentielle de citronnelle est protégé contre les champignons contaminants le riz en stockage.

La comparaison du spectre d'action de *Cymbopogon schoenanthus* à celui de *Ocimum basilicum* montre qu'elles ont approximativement les mêmes effets sur la croissance des divers germes des céréales en stock (**Ketoh,1998**).

En outre, des résultats similaires ont été obtenus avec les huiles essentielles d'*Artemisia indica* et de *Lantana camara* aux concentrations de 80 µl/ml (8%) et 160 µl/ml (16%) sur la croissance radiale d'*Alternaria alternata* (**Bhattarai et Jha, 2016**).

Les expériences menées par **Aboura M.& Belguendouz A. (2021)** indiquent que les huiles essentielles de *Rosmarinus sp.* et de *Myrtus sp.* ainsi que leur association ont un effet inhibiteur moyen sur *Fusarium sp.* par la méthode de contact direct

V.1.3. Comparaison de l'activité antifongique des deux huiles essentielles *Mentha pulegium* et *Cymbopogon schoenanthus*

La comparaison des diamètres moyens des deux huiles essentielles *Mentha pulegium* et *Cymbopogon schoenanthus*, nous permet de dire que toutes les souches testées ont montré des degrés de sensibilité variables avec la même concentration.

L'huile essentielle *Cymbopogon schoenanthus* a manifesté un pouvoir antifongique plus important que celui de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* contre les souches testées

(*Alternaria Alternata* sur nefflier, *Alternaria sp* sur féve, *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae* et *Fusarium pseudograminearum*) (Figure 24).

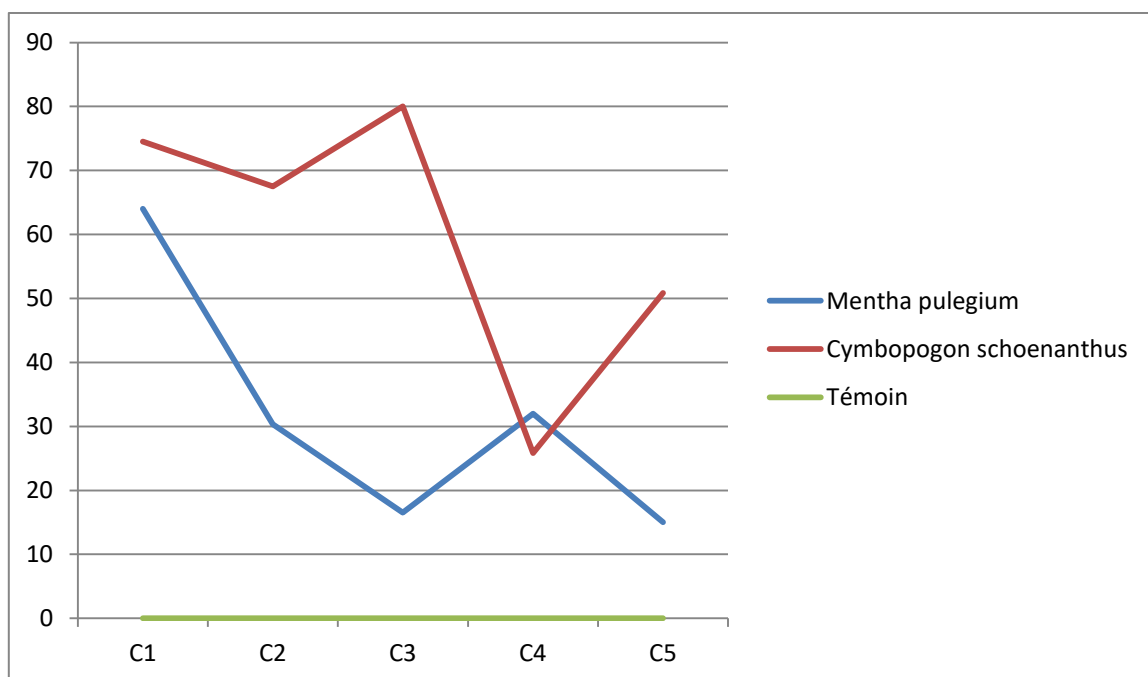


Figure 24 : Comparaison des diamètres moyens des deux huiles essentielles *Mentha pulegium* et *Cymbopogon schoenanthus*.

Les variations de l'activité antifongique observées entre les deux HE évaluées sont liées à plusieurs paramètres dont la nature et la concentration de l'HE, la nature du champignon utilisé ainsi que d'autres facteurs pédoclimatiques.

Les huiles essentielles *Cymbopogon schoenanthus* et *Mentha pulegium* sont des antifongiques naturels très efficaces et peuvent être une source très importante de constituants biofongicides utilisés pour éradiquer les infections d'origine fongique.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Un grand nombre de plantes aromatiques contiennent des composés chimiques ayant des propriétés biologiques différentes, telles que l'activité antimicrobienne, activité insecticide, activité antioxydante, et l'activité anticancerigène.

Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur les huiles essentielles extraites de ces plantes aromatiques.

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antifongique de *cymbobogon schoenanthus* et *Mentha pulegium*, vis-à-vis de cinq souches de champignons notamment *Alternaria Alternata. sur nefflier*, *Alternaria sp sur féve*, *Fusarium oxysporum* et *Fusarium pseudograminearum* par la méthode d'Aromatogramme.

Nos huiles de façon générale ont manifesté une activité antifongique qui varie d'une souche fongique à une autre.

A partir des résultats obtenus, nous avons pu mettre en évidence le pouvoir antifongique de deux huiles essentielles testées, un meilleur effet a été donné par l'huile essentielle de *cymbobogon schoenanthus* par rapport à l'huile de *Mentha pulegium*.

Nos résultats sont intéressants et montrent clairement que les huiles essentielles testées sont très actives contre les champignons testés. Ces recherches méritent d'être approfondies pour exploiter les propriétés antifongiques de ces huiles dans le domaine de l'agriculture.

A

1. **Abdel-Monaim, M. F., El-Morsi, M. E. A., & Hassan, M. A. E. (2014).** Control of root rot and wilt disease complex of some evergreen fruit transplants by using plant growth promoting rhizobacteria in the New Valley Governorate, Egypt. *Journal of Phytopathology and Pest Management*, 23-33.
2. **Aboura M.,Belguendouz A., (2021).** Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques *Rosmarinus sp* et *Myrtus sp.* vis-à-vis du champignon *Fusarium sp.*, Mémoire de Master, Université de Mostaganem, 46p.
3. **Agrios, G. N. (2005).** *Plant Pathology* (5th ed.). Academic Press.
4. **Angenot L. (2014).** utilisation des huiles essentielles en pharmacie, potentialités thérapeutique et effets toxiques rencontrés dans la population, huiles essentielles et aromatique. Université de Liège. p 2-26.
5. **Alfano G., Lustrato G., Lima G., Vitullo D., Ranalli G.(2011).** Characterization of composted olive mill wastes to predict potential plant disease suppressiveness. *Boil, Control.*, 58: 199-207.
6. **Amsellem, Z., Zidack, NK., Quimby, PC., Gressel, JrJ. (1999).** Long-term dry.
7. **Alabouvette C., Olivain C., Steinberg C.,(2006).** Biological control of plant diseases: the European situation. *European Journal of Plant Pathology*, Vol. 114, No. pp. 329–341.
8. **Aoki T, O ‘Donnell K and Gesier D M (2014).** Systematics of key phytopathogenic *Fusarium* species : current status and future challenges. *J Gen plant pathol* 80 :189-201.
9. **Arslan M., Dervis S.(2010).** Antifungal activity of essential oils against three vegetative compatibility groups of *Verticillium dahliae*. *World J. microbial, Biotechnol.*, 26: 1813-1821.
10. **Aous W. (2015).** Variabilité chimique et activités biologiques d'extraits de citronnelle (*Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng) du Sahara Algérien. Thèse de Doctorat D'Institut National Agronomique – El Harrach. In Viala A. (1998). *Elément de toxicologie, Techniques et Documentation*, Lavoisier, 521 p.

11. **Awuah R.T. & W.O. Ellis, (2001).** Effects of some groundnuts packaging methods and protection with Ocimum and Syzygium powders on kernel infection by fungi. *Mycopathologia*, 154, 29-36.

B

12. **Baker, K.E., Cook, R.J. (1974).** Biological control of plant pathogens, Freeman, San Fransisco.
13. **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008).** Biological effects of essential oils. A review *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475.
14. **Belabid L., (2003).** La fusariose vasculaire de la lentille (*Lens culinaris* Med.) dans le Nord-Ouest Algérien : Morphologie et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* (Schlecht.)
15. **Emend. S. & H. f. sp. lentis (Vasud. & Srini.)** en relation avec la répartition géographique et le pouvoir pathogène. Thèse de Doctorat, Université d'Oran.
16. **Bellahcene M., Fortas Z., Fernandez D., Nicole M. (2005).** Vegetative compatibility of *Verticillium dahlia* isolated from olive trees (*Olea europea L.*) in Algeria. *Afric. J. Biotechn.* 4 (9): 963-967.
17. **Beloued A. (2009).** Plantes médicinales d'Algerie. 5ème édition, 255.
18. **Ben Amor B., (2008).** Maitrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs texturation par détente instantanée contrôle edic, thèse doctorat Université la ROCHELLE, France. 207 p.
19. **Benhouhou S., (2005).** *Cymbopogon schoenanthus* spreng in A Guide to Medicinal Plants in North Africa. IUCN the World Conservation Union, Espagne p.p. 139.
20. **Benoît J., (2005).** Les fusariotoxines sur céréales: détection, risque et nouvelle réglementation. Thèse de Doctorat. Université HENRI POINCARÉ – NANCY I. pp : 126.
21. **Benmehidi, O., Boukaaba, Y., (2018).** Pépinière des principales maladies fongiques du blé dur dans la région de Constantine. Mémoire de Master : Biologie et Physiologie Végétale. Constantine: Université des Frères Mentouri Constantine, 87p.

22. **Besombes, C. (2008).** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermo mécanique d'herbes aromatiques: applications généralisées (Doctoral dissertation, Université de La Rochelle).
23. **Bhattarai B, Jha SK. (2016).** Antifungal effects of some plant essential oils against *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl and *Aspergillus niger* van Tiegh from grapes. *Biological Forum – An International Journal*, 8 (2): 259-263.
24. **Bisby, GR. (1939).** *Trichoderma viride* Pers. Ex. Fries and notes on *Hypocrea*, *Trans. Br. Mycol.Soc.* 33: 149- 169.
25. **Blancard, D., Laterrot, H., Marchoux, G., Candresse, T. (2012).** A colour Handbook Tomato Diseases: identification, biology and control. Manson Publishing Ltd. 688 pp.
26. **Bouchet. P., Guiganard. J. L.,pouchus. Y. F., Villand. J. (2005).** Les champignons : Mycologie fondamentale et appliquée. 2eme edition. Elsevier Masson. P 23-25.
27. **Boddu, J., Cho, S., Kruger, W. M., & Muehlbauer, G. J. (2006).** Transcriptome analysis of the barley-*Fusarium graminearum* interaction. *Molecular plant-microbe interactions*, 19(4), 407-417.
28. **Booth C. (1971).** The genus *Fusarium*. Kew (surrey): Common Wealth Mycologica Institute, England. pp 137.
29. **Botton, B., Breton, A., Fèvre, M., Guy, P., Larpent, J., & Veau, P. (1990).** Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle.
30. **Bouchonnet S. & Libong D., (2002).** Le couplage chromatographique en phase gazeusespectrometrie de masse. Département de Chimie, Laboratoire des Mécanismes Réactionnels. Ecole Polytechnique, PALAISEAU Cedex. p 2.
31. **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème éd, Lavoisier, Paris, 1120.
32. **Bubici G., Cirulli M. (2011).** Verticillium wilt of olives. In Schena L, Agosteo GE, Cacciola SO (eds) Olive diseases and disorders. Research Signpost, Kerala, (India), ISBN: 1-14.
33. **Bulit J., Bouhot D., Louvet J., Toutain G.,(1967).** Recherches sur les fusarioses. Travaux sur le Bayoud fusariose vasculaire du palmier dattier en Afrique du Nord. *Annales des Epiphyties*, 18 213-239.

C

34. **Caccioni.R.L. & Guizardi M. (1994).** Inhibition of germination of fruit and post harvest pathogenic fungi by essential oil components. *J. Essent. Oil Res.*, 6, 173-179.
35. **Caillet S et Lacroix M., (2007).** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier. (RESALA), p 1-8.
36. **Cavalli F., (2002).** Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar. Thèse de Doctorat, Université de Corse Pascal Paoli.
37. **Carson C.F., Rilley T.V., Bosque F., (2002).** Antimicrobia activity of the major components of essential oil of *Malaleuca altemifolia*. *Journal of Applied Bacteriology*. 78, p:264-269.
38. **Chaabi M. (2008).** Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines: Euphorbiasteno-claBaill. (Euphorbiaceae), AnogeissusliocarpusGuill. Etperr. (Combrétaceae), Limoniastrumfeeii(Girard) Batt. (Plumbaginaceae). Thèse de doctorat en pharmaco chimie, Université, Louis Pasteur et Université MENTOURI de Constantine (Alger): 179, 180.
39. **Chao S.C., Young D.G et Oberg G.J.,(2000).** Screening for inhibitory activity of essential oils on selected Bacteria, Fungi and viruses. *Journal of Essential oil Research*. 12, p: 639- 649.
40. **Chebli B., Achouri M., Idriss Hassani L.M., et Hmamouchi M., (2003).** Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers: Fr, *J. Ethnopharmacol.*, 89 :165-169.
41. **Ciamanga. & AL., (2002).** Correlation between chemical composition and anti bacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *J. Ethno pharmacology*, 79, 213-220.
42. **Cowanm.M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.*, 12, 564-582.
43. **Cox S.D ., Mann C.M ., Markham J.L ., Bell H.C ., Gustafson J.F., Warmington J.R et Wyllie S.G., (2000).** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Malaleuca Altemifolia* (tee tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, p 170-175.

D

44. **Davidson P.M., (1997).** Methods for testing the efficacy of food antimicrobial. Food Technology.43, p:148-155.
45. **Deacon, J. (2005).** Fungi as plant pathogens. In Fungal Biology.
46. **Desai, M. A., Parikh, J., & De, A. K. (2014).** Modelling and optimization studies on extraction of lemongrass oil from *Cymbopogon flexuosus* (Steud.) Wats. Chemical Engineering Research and Design, 92(5), 793-803.
47. **Dellille L. (2007).** Les plantes médicinales d'algérie. Berti editions, Alger, 240. /106.
48. **Deyson G. (1979).** Organisation et classification des plantes vasculaires. CDU et SEDES réunis, 540.
49. **Dohoun., Yamnik., Badoc A. & Douira, A., (2004).** Activité antifongique d'extraits de *Thymelaelythroidessur* trois champignons pathogènes du riz. Bull. Soc. Pharm, 143: 31-38.
50. **Dorman H.J. et Deans S. G., (2000).** Antimicrobial agents from plants: anti bacterial activity of plant volatile oils, p 308-316.
51. **Dyakov, Y. T. (2007).** Chapter 0 - Overview on parasitism. In Y. T. Dyakov, V. G. Dzhavakhiya, & T. Korpela (Eds.), *Comprehensive and molecularphytopathology*(pp. 3-17). Amsterdam: Elsevier.

E

52. **Eddine, B. C. S. (2017).** Etude de L'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium Poliumssp Eurasianum Labiatae* (Doctoral dissertation, Thèse De Doctorat, Université Kaste Merbah (Ouargla).
53. **Edel V., Steinberg C., Avelange I., Laguerre G and Alabouvette C., (1995).** Comparison of three molecular methods for the characterization of *Fusarium oxysporum* strains. Phtopathology 85: 579-585.
54. **Edris A.E. & E.S. Farrag, (2003).** Antifungalactivity of peppermint and sweetbasil essential oils and their major aromaconstituents on some plant pathogenicfungifrom the vapor phase. Nahrung, 47 {2), 117-21.

55. **Ekpenyong, C. E., Akpan, E. E., & Daniel, N. E. (2014).** Phytochemical constituents, therapeutic applications and toxicological profile of *Cymbopogon citratus* Stapf (DC) leaf extract. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(1), 133-141.
56. **El Ajour M, Satrani B. Ghanmi M., Aafi A., Farah A., Rahouti M, Amari Ft Aberchane M. (2008).** Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus blecherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'ouvre. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2008 12(4), 345-351.
57. **El Arch M., Satrani B., Farah A, Bennani L., Boriky D., Fechtal M., Blaghen M et Talbi M., (2003).** Composition chimique et activité antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* du Maroc, *Acta Bot. Gallica*, 150 (3), 267-274.
58. **Elfatih M., Ali K., Inanaga S. and Sugimoto Y., (2002).** Sources of resistance to *Fusarium* wilt of chickpea in Sudan, *Phytopathol. Mediterr*, 41, 163–169.
59. **El hassani,F.Z. (2020).** Characterization, activities, and ethnobotanical uses of *Mentha* species in Morocco, Contents lists available at ScienceDirect. University Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fez 30050, Morocco , Heliyon 6 e05480.
60. **Elhouiti F., (2018).** Valorisation des huiles essentielles de *Rhanterium adpressum* Goss. Durieu par analyse chimique et étude de leurs bioactivités. Thèse de Doctorat Université Kasdi Merbahn Ouargla.
61. **El-Tarabilya K. A. &Sivasithamparam K. (2006).** Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growthpromoters.*SoilBiol. Bioch.* 34: 116.
62. **Emend. S. & H. f. sp. lentis (Vasud. & Srini.)** en relation avec la répartition géographique et le pouvoir pathogène. Thèse de Doctorat, Université d'Oran.
63. **Européenne, P. (2002).** Médicaments Dérivés du Sang Humain.

F

64. **Fakhari AR Salehi P. Heydari Ebrahimi S.N. Haddad P.R. (2005).** Hydrodistillation head space solvent microextraction, a new method for analysis of the essential oil components of *Lavandula angustifolia* Mill. *Journal of Chromatography A*, 1098: 14-18.

65. **Faucon, M., Lobstein, A. (2015).** Traité d'aromathérapie scientifique et médicale: fondements & aide à la prescription, 2^{ème} éd. Sang de la terre, Paris.
66. **Ferhat M. A., Meklati B. Y. et Chemat F. (2007).** Comparison of different isolation: methods of essential oil from Citrus fruits: cold pressing, hydrodistillation and microwave 'dry' distillation. *Flavour Fragr. J.* 22: 494-504.
67. **Festy, D. (2014).** Huiles essentielles, le guide visuel le guide aromain dispensable quotidien matin, p15-21.
68. **Florence, M. (2012).** Utilisations thérapeutiques de huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite, faculté de pharmacie , Université De Lorraine, p30.
69. **Florence, M. (2012).** Utilisations thérapeutiques de huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite, faculté de pharmacie , Université De Lorraine, p28.
70. **Fravel D.R., Larkin R.P. (2000).** Effect of sublethal stresses on microsclerotia of *Verticillium dahliae*, In: Tjamos, E.C., Rowe, R.C., Heale, J.B., Fravel, D.R.(eds), *Advances in Verticillium Research and Disease Management* . American Phytopathological Society (APS) Press, St. Paul, MN, USA. 301 -306.
71. **Frederix M. J. J., Den Brader K., (1989).** Résultats des essais de désinfection des sols contenant des échantillons de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. FAO/PNUD/RAB/88/024. Ghardaia, Algérie.

G

72. **Gamisans Jet Jeanmonod D., (1993).** Catalogue des plantes vasculaires de la Corse (seconde édition). Edition des conservatoires et jardin botaniques de la ville de Genève, Chambésy, 258p.
73. **Garnero J. (2001).** Les huiles essentielles. Techniques de l'ingénieur, traité Constantes K 345.
74. **Gerhardson B., (2002).** Biological substitutes for pesticides. *Trends Biotechnol.* 20, 338-343.
75. **Gbogbo, K. A., Batawila, K., Anani, K., Prince-David, M., Gbéassor, M., Bouchet, P. & Akpagana, K. (2006).** Activité antifongique des huiles essentielles de *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) et *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. (Poaceae) sur des micromycètes influençant la germination du Maïs et du Niébé. *Acta Botanica Gallica*, 153(1), 115–124.

H

- 76. Hajlaoui H., Trabelsi N., Noumi E., Snoussi M., Fallah H., Ksouri R. et Bakhrouf A., (2009).** Biological activities of the essential oils and methanolextract of towcultivatedmintspecies (*Mentha longifolia*and *Mentha pulegium*) used in the Tunisianfolkloricmedicine, World J. Microbiol. Biotechnol. 25 : 2227-2238.
- 77. Hiemstra J., Harris D. (1998).** Compendium of *Verticillium wilt* in Tree Species. Ponsen & Looijen, Wageningen. The Netherlands.
- 78. Hmiri, S., Rahouti, M., Habib, Z., Satrani, B., Ghanmi, M., & El Ajjouri, M. (2011).** Évaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et d'*Eucalyptus Camaldulensis* dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation. Bulletin de la société royale des sciences de liège. Vol. 80, 824 – 836.

J

- 79. Javorka, K., Tomori, Z., Zavorská, L., (1980).** Protective and defensive airway reflexes in premature infants. *Physiol Bohemoslov* 29, p29-35.
- 80. Jourdan, E., Henry, G., Duby, F., Dommes, J., Barthelemy, LP., Thonart, P. (2013).** *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*: properties, biosynthesis, fermentation.

K

- 81. Kalembe, D. A. A. K., & Kunicka, A. (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, 10(10), 813-829.
- 82. Katiki, L. M., Chagas, A. C. S., Takahira, R. K., Juliani, H. R., Ferreira, J. F. S., & Amarante, A. F. T. D. (2012).** Evaluation of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil in lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus*. *Veterinary parasitology*, 186(3-4), 312- 318.
- 83. Kaur R., Kaur J. and Singh R. S., (2010).** Nonpathogenic *Fusarium* as a Biological Control Agent. *Plant Pathology Journal*, 9: 79-91.

- 84. Ketoh K.G.K.(1998).** Utilisation des huiles essentielles de quelques plantas aromatiques du Togo comme biopesticides dans la gestion des stades de developpement de *Callosobruchus maculatus* F (Coleoptera : Bruchidae). Thèse doctoral, Université du Benin, Togo, 141 p.
- 85. Khajeh M., Yadollah Yamini Y., Bahramifar N., Sefidkon F. et Reza Pirmorade M. (2005).** Comparison of essential oils compositions of *Ferula assa-foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and methods. *Food Chemistry*, 91: 639-644.
- 86. Koba K. (2003).** Activites antimicrobiennes des huiles essentielles de quatre Lamiacees de Iaflare togolaise sur des germes de Ia microflore cutanee : application à la formulation d'emulsions a usage topique. These doctoral, Universite de Lome, Togo, 174p.
- 87. Kumar R., Tapwal A., Kumar Borah R. (2012).** *Verticillium wilt* infecting *Parkia roxburghi* seedling in Manipur india. *Academic Journal Inc.*, 1-6.
- 88. Kustrzeba-Wójcicka, I., Siwak, E., Terlecki, G., Wolańczyk-Mędrala, A., & Mędrala, W. (2014).** *Alternaria alternata* and its allergens: a comprehensive review. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 47, 354-365.

L

- 89. Lahlou M., (2004),** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils, *Phytotherapy Research*, p. 435-448.
- 90. Lahsissene H., Kahouadja A., Tijane M et Hseini S. (2009).** Catalogue de plantes médicinales utilisées dans la région de Zaer (Maroc occodental). le jeunia, Liège (Belgique), 24. BE ISSN 0457-4184.
- 91. Lambinon J., Delvosalle L., Duvigneaud J. (2004).** La nouvelle flore de la Belgique du Grand-Duché de Luxembourg, du Nord de la France et des régions voisins. 5eme édition, Jardin Botanique National de Belgique, 1167.
- 92. Lamiri A., Lhalou S., Benjilali B. & Berrada M., (2001).** Insecticid al effects of essential oils against Hessian fly, *Mayetiola Destructor* (Say). *Field Crops Res.*, 71, 9 15.
- 93. Lepoivre, P. (2003).** *Phytopathologie*. De Boeck et Lancier, Bruxelles. 427: 320.
- 94. López-Escudero, F. J., Mercado-Blanco, J., Roca, J. M., Valverde-Corredor, A., & Blanco-López, M. Á. (2010).** *Verticillium wilt* of olive in the Guadalquivir Valley

- (southern Spain) relations with some agronomical factors and spread of *Verticillium dahliae*. *Phytopathologia Mediterranea*, 49(3), 370-380.
95. **Lis-Balchin M. (2002)**. Lavender: the genus *Lavandula*, Taylor and Francis, London, p 37, 40.
96. **Lucchesi M. E. (2005)**. Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles, thèse doctorat: Université de la Réunion, France. 146 p.
97. **Lucchesi M. E., Chemat F. et Smadja J. (2004)**. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro- distillation. *Journal of Chromatography A* 1043:323-327.

M

98. **Madhavi D. L., Deshpande S. S., Salunkhe D. K. (1996)**. Food *Antioxidants, Technological, Toxicological, and Health Perspectives*, Marcel Dekker, Inc. New York, p.65
99. **Mahboubi, M. and Haghi, G. (2008)**. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*, 119, 325–327.
100. **Mahmoudi, S., Khali, M. et Mahmoudi, N. (2013)**. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technologie*, 35-40.
101. **Malecky M. (2008)**. Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins thèse doctorat l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech).
102. **Mercado-Blanco J., Rodriguez-Jurado D., Hervas A., Jimenez -Diaz R.M. (2004)**. Suppression of *Verticillium wilt* in olive planting stocks by root –associated.
103. **Messiaen, C. M., Blancard, D., Lafon, R., & Rouxel, F. (1991)**. Les maladies des plantes maraîchères. *Les maladies des plantes maraîchères*, 1-568.

104. **Molino, P (Ed). (2005).** A guide to medicinal plants in North Africa. Spain: Malaga.
105. **Moretti, A., Belisario, A., Tafuri, A., Ritieni, A., Corazza, L. and Logrieco, A. (2002).** Production of beauvericin by different races of *Fusarium oxysporum* f. sp. melonis, the *Fusarium* wilt agent of muskmelon. *Eur. J. Plant Pathol.* 108: 661-666.
106. **Montel S. (2004).** Evaluation de l'effet de quelques substances naturelles face aux champignons phytopathogènes les plus courants du riz. Rapport de stage BTS en productions végétales. INERA, Station de Farako-bâ, Bobo Dioulasso, Burkina Faso, 44p.
107. **Multon, J.L, (2002).** Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés :Céréales, oléagineux, aliments pour animaux. Lavoisier Technique & Documentation, ParisApria. Volume 1, 576p.

N

108. **Nielsen P.V. & Rios R. (2000).** Inhibition of fungal growth on bread by volatile components fromspices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *Int. J. Food Microbiol.*, 60, 219-229.
109. **Nannipieri P., Grego S., Ceccanti B.(1990).** Ecological significance of the biological activity in soil. In: Bollag JM, Stotzky G (Eds) *Soil biochemistry*, vol 6. Marcel Dekker, New York, 293-355.
110. **Nyahnjike G., Watcho P., Nguenefack T.B. & Kamanyi A. (2007).** Hypoglycaemic activity of the leaves of *Bersamaenglerianain* rats. *Afr J Trad.* 2(3): 215-221.
111. **Nyah NEjike G., Watcho P., Nguenefak T.B. & Kamanyi A., (2007).** Hypoglycaemic activity of the leaves of *Bersamaengleriana* in rats. *Afr J Trad.* 2(3): 215-221

O

112. **Ongena, M., Jacques, P. (2008).** *Bacillus lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol.* Trends Microbiol. 16: 115- 125.
113. **Ouraini D, Agoumil A, Ismaili-Alaoui M, Alaoui K, Cherrah Y, Amrani M, Bellabas MA. (2005).** Etude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes. *Phytothérapie*, 4, 147-157.
114. **Oussou K.R, Yolou S., Jean Brice Boti J.B., Kouadio Nathalie Guessenn K.N., Coffi Kanko C., Coffy Ahibo C. et Casanova j. (2008).** Etude Chimique et Activite Antidiarrheique des Huiles Essentielles de Deux Plantes Aromatiques de la Pharmacopee Ivoirienne. *European Journal of Scientific Research* Vol.24 No.1, pp.94-103.

P

115. **Paolini J. (2005).** Caractérisation des huiles essentielles par CPG/Ir, CPG/SM- (IE et IC) et RMN du CARBONE-13 de *Citrus albidus* et de deux *asteraceae* endémiques de Corse : *Eupatorium cannabinum* subsp. *Corsicum* et *doronicum corsicum*. Faculté des sciences et technique. Thèse de Doctorat de l'Université de Corse Pascal Paoli.
116. **Paranagama P.A., K.H. Abeysekera, K. Abeywickrama & L. Nugaliyadde, (2003).** Fungicidal and anti-aflatoxigenic effects of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (lemongrass) against *Aspergillus flavus* Link. isolated from stored rice. *Lett. Appl. Microbiol.*, 37 (1), 86-90.
117. **Pegg G.F., Brady B.L. (2002).** *Verticillium wilts.* Cromwell Press, Trowbridge, 552p. *phytopathology*, 26 : 75-91.
118. **Pibiri.M. (2005).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse doctorat: école fédérale de Lausanne.
119. **Pinji and Hocking AD. (2009).** *Fungi and food spoilage.* Springer Dordrecht Heidelberg London New York. Third edition. P 89-122.

120. **Pitt, J.I., Hocking, A.D., Miscamble, B.F., Dharmaputra, O. S., Kuswanto, K.R., Rahayu, E.S., and Sardjono (1997).** The mycoflora of food commodities from Indonesia. *J. Food Mycol.* 1: 41-60.
121. **Porter.N., (2001).** Essential oils and other production: crop and food research, number 9, edition Reader, p 282-286.
122. **Poirot.T. (2016).** Bon usage des huiles essentielles effets indésirables et toxicologie, faculté de pharmacie, Université De Lorraine, p 31.
123. **Poirot.T. (2016).** Bon usage des huiles essentielles effets indésirables et toxicologie, faculté de pharmacie, Université De Lorraine, p67.
124. **Pérez-Gacia, A., Romeo, D., de Vicente, A. (2011).** Plant protection bymicroorganisms : biotechnological applications of bacilli in agriculture. *Current opinion in biotechnology.* 22: 187-193.
125. **Proctor, R.H., Plattner, R.D., Brown, D.W., Seo, J.A. and Lee, Y.W. (2004).** Discontinuous distribution of fumonisin biosynthetic genes in the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycol. Res.* 108: 815-822.

Q

126. **Quezel P., Santa S. (1962-1963) :** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Centre national de la recherche scientifique, 2 tomes, Paris. 1170.

R

127. **Robert, G. (2000).** Les Sens du Parfum. Osman Eroylls Multimedia. Paris. 224 p. Cité par Piochon M. (2008).
128. **Raaijmakers, J.M., Vlami, M., Jorge, T. (2002).** Antibiotic production bybacterialbiocontrol agents. *Antonie van Leeuw* 81, 537–547.
129. **Rappily, F. (1968).** Les techniques en mycologie en populations of *Verticillium*—an overview *Advances pathologie végétale. Annuelles des Epiphytes*, vol. in *Verticillium Research and Disease Management*, 19, 69-86.
130. **Roldan-Gutierrez J.M., Ruiz-Jiménez J., Luque de Castro M.D. (2008).** Ultrasound- assisted dynamic extraction of valuable compounds from aromatic plants

and flowers as compared with steam distillation and superheated liquid extraction. *Talanta*, 75: 1369-1375.

131. **Romeo, D., de Vincente, A., Racotoaly, RH., Dufour, SE., Veenig, JW. (2007).** The iturin and fungicin families of lipopeptides are key factors in antagonism of *Bacillus subtilis* toward *Podosphaera fusca*. *Mol Plant-Microbe interact.* 20:430- 440.
132. **Richard, H. (1992).** Épices et Aromates. Technologie et Documentation Lavoisier. Paris. P 339.

S

133. **Sanago R. (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université de Bamako.
134. **Sanei, H., Outridge, P. M., Goodarzi, F., Wang, F., Armstrong, D., Warren, K., & Fishback, L. (2010).** Wet deposition mercury fluxes in the Canadian sub-Arctic and southern Alberta, measured using an automated precipitation collector adapted to cold regions. *Atmospheric Environment*, 44(13), 1672-1681.
135. **Schottel, J.L., Shimizu, K., Kinkel, L.L. (2001).** Relationships of in vitro pathogen inhibition and soilcolonization to potatoescab biocontrol by antagonistic *Streptomyces* spp. *Biol. Control* 20, 102–112.
136. **Satrani, B., Farah, A., & Talbi, M. (2006).** Effet de la distillation fractionnée sur la composition chimique et l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du Myrte (*Myrtus communis* L.) du Maroc. *Acta Botanica Gallica*, 153(2), 235-242.
137. **Satrani B. (2010).** Valorisation des plantes aromatiques et médicinales du Maroc. Éditions Universitaires Européennes, ISBN : 978-613-1-51855-3, 153P.
138. **Sharma, RR., Dinesh, S., Rajbir, S. (2009).** Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. *Biological control*. 50: 205-221.
139. **Simmons. (2007).** Thèse de DOCTORAT LMD Spécialité: Microbiologie Option : Contrôle Microbiologique et Hygiène Alimentaire Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria* sp. Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires

140. **Sijelmassi A. (1993).** Les plantes médicinales du Maroc. 3ème édition, Fennec, Casablanca, 285.
141. **Silou T., Malanda M., Loubaki L. (2004).** Optimisation de l'extraction de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* grace à un plan factoriel complet 2³. *Journal of Food Engineering*. 65:219-223.
142. **Singh D. K. and Jha M. M., (2003).** Effect of fungicidal treatment against chickpea wilt.
143. **Sirim, A., Sereme, A., Sereme, D., Koita, K., Nana, T. A., & Sawadogo, M. (2020).** Effets de quatre huiles essentielles sur la croissance mycélienne radiale d'un isolat de *Alternaria* sp. au Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 14(3).
144. **Suhr K.I. and Nielsen P.V. (2003).** Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi, *J. Appl. Microbiol.*, 93, 665- 674.
145. **Sutour S. (2010).** Étude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthe de corse et de kumquats. Thèse de doctorat, spécialité : Chimie Organique et Analytique.
146. **Stagos D., Portesis N., Spanou C., Mossialos D., Aligiannis N., Chaita E., Panagoulis C., Reri E., Skaltsounis L., Tsatsa A.M., Kouretasa D. (2012).** Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic . *Lamiaceae* species. *Food and Chemical Toxicology*, 50(11):4115–4124.

T

147. **Tabuc C., (2007).** Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de doctorat école nationale vétérinaire de Toulouse France.
148. **Teuscher, E., Anton, R., & Lobstein, A. (2005).** Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles (p. 552). Tec & Doc.
149. **The Institute of Medicine. (2011).** The national academies collection: reports funded by national institutes of health. In *Fungal Diseases: An Emerging Threat to*

Human, Animal, and Plant Health: Workshop Summary. Washington (DC): National Academies Press (US) National Academy of Sciences.

150. **Toueni, M. (2014)**. Étude de l'interaction entre *Verticillium alfa lfae* et *Medicago truncatula*.

U

151. **Uppal A.K., El Hadrami A., Adam L.R., Tenuta M., Daayf F. (2008)**. Biological control of potato *Verticillium wilt* under controlled and field conditions using selected bacterial antagonists and plant extracts. *Boil. Control* ., 44: 90 -100. using ethanol-water mixture. *Food chemistry*., **101** : 1417- 1424.
152. **Ultee, A., Bennik, MHJ et Moezelaar, RJAEM (2002)**. Le groupe hydroxyle phénolique du carvacrol est essentiel pour agir contre le pathogène d'origine alimentaire *Bacillus cereus*. *Microbiologie appliquée et environnementale* , 68 (4), 1561-1568

V

153. **Valnet M.,(2005)**.Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* m Tyndallized carrot broth International. *Journal of Food Microbiology*.85, p:73-81.
154. **Verma, M., Brar, SK., Tyagi, RD., Surampalli, RY., Valéro, JR. (2002)** Antagonistic fungi *Trichoderma* spp. panoply of biological control. *Biochemical engineering*. 37: 1-20.

W

155. **Wang L., Weller C.L. (2006)**. Recent advances in Extraction of nutraceuticals from plants *Trends in Food Science & Technology*, 17: 300-312.
156. **Wendakoon, C. N., & Sakaguchi, M. (1995)**. Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *Journal of food protection*, 58(3), 280-283.
157. **Woltz S. S. and Jones J. P., (1981)**. Nutritional requirements of *Fusarium oxysporum*: Basis for a disease control system, pp. 340-349.

158. **Wyllie, J.P., Alexander, F.W.,(1994).** Nasal instillation of "Olbas Oil" in an infant. *Arch Dis Child* 70, p357-358.

Y

159. **Yangui T., Sayadi S., Gargoubi A., Dhouib A. (2010).** Fungicidal effect of preparations from olive mill wastewater against *Verticillium dahliae*. *Crop Protection* 29: 1208-1213.
160. **Yedidia, I., Benchamou, N., Kapulnik, Y., Chet, I. (2000).** Induction and accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. *Plant physiol. Biochem.* 38: 863-873.

Z

161. **Zaika, L. L. (1988).** Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination 1. *Journal of food safety*, 9(2), 97-118.

Annexes

Matériel de laboratoire



Pipette pasteur



Micropipette



Bec benzène



Bain marie électrique



Etuve



Agitateur



Scalpel



Pince

Les souches testées



Souche Verticillium dahliae.



Alternaria neflier , Alternaria fève



Souche Fusarium oxysporum.



Souche Fusarium pseudograminearum.

RESUME

Les plantes aromatiques et médicinales représentent une source inépuisable de remèdes traditionnels et efficaces grâce à leurs différents principes actifs notamment les huiles essentielles. Ce travail porte sur l'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques et médicinales de la flore Algériennes (*Cymbobogon schoenanthus*, *Mentha pulegium*) vis-à-vis de cinq champignons phytopathogène (*Alternaria neflier*, *Alternaria féve* *Fusarium oxysporum*, *Fusarium pseudograminearum*, *Verticillium spp*).

Les résultats des activités antifongiques ont montré que les huiles essentielles de *cymbobogon schoenanthus* présentent une bonne activité inhibitrice par rapport à l'huile de *Mentha pulegium*.

Mots-clés : huiles essentielles, activité antifongique, (*Cymbobogon schoenanthus*, *Mentha pulegium*) , (*Alternaria neflier*, *Alternaria féve* *Fusarium oxysporum*, *Fusarium pseudograminearum*, *Verticillium dahlae*)

ABSTRACT

Aromatic and medicinal plants represent an inexhaustible source of traditional and effective remedies thanks to their different active ingredients, especially essential oils . This work concerns the study of the antifungal activity of the essential oils of two aromatic and medicinal plants of the Algerian flora (*Cymbobogon schoenanthus*, *Mentha pulegium*) against five fungi (*Alternaria neflier*, *Alternaria féve* *Fusarium oxysporum*, *Fusarium pseudograminearum*, *Verticillium dahliae*). The results of antifungal activities showed that essential oils of *cymbobogon schoenanthus* exhibit good inhibitory activity compared to *Mentha pulegium* oil.

Keywords: essential oils, antifungal activity, (*Cymbobogon schoenanthus*, *Mentha pulegium*) , (*Alternaria neflier*, *Alternaria féve* *Fusarium oxysporum*, *Fusarium pseudograminearum*, *Verticillium dahlae*).

المخلص

تمثل النباتات العطرية والطبية مصدرًا لا ينضب للعلاجات التقليدية والفعالة بفضل مكوناتها النشطة المختلفة ، وخاصة الزيوت الأساسية. يتعلق هذا العمل بدراسة النشاط المضاد للفطريات للزيوت الأساسية لنبتتين عطريتين وطببتين من النباتات الجزائرية (*Cymbobogon schoenanthus*, *Mentha pulegium*) ضد خمس فطريات (*Alternaria neflier*, *Alternaria féve* *Fusarium oxysporum*, *Fusarium pseudograminearum*, *Verticillium dahliae*).

أظهرت نتائج الأنشطة المضادة للفطريات أن الزيت الاساسي *Cymbobogon schoenanthus* تظهر نشاطًا مثبطًا جيدًا مقارنة بزيوت *Mentha pulegium*.

الكلمات المفتاحية: زيوت عطرية ، نشاط مضاد للفطريات ، (*Cymbobogon schoenanthus*, *Mentha pulegium*) ، (*Alternaria neflier*, *Alternaria féve* *Fusarium oxysporum*, *Fusarium pseudograminearum*, *Verticillium dahlae*).

